

Aus dem Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
(Arbeitsgruppe: Prof. Dr. med. H.-J. Merker)

Störungen der Zahnentwicklung bei Rattenembryonen
nach Gabe von 6-Aminonicotinamid

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

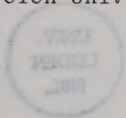
vorgelegt von
Zahnärztin Carmen Förster geb. Wedrzyk
aus Berlin

1977
—

Aus dem Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
(Arbeitsgruppe: Prof. Dr. med. H.-J. Merker)

Störungen der Zahnentwicklung bei Rattenembryonen
nach Gabe von 6-Aminonicotinamid

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin



vorgelegt von
Zahnärztin Carmen Förster geb. Wedrzyk
aus Berlin

Referent: Prof. Dr. med. H.-J. Merker

Korreferent: Prof. Dr. med. dent. H. Lenz

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-, Mund- und
Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin



Promoviert am: 13. 1 1977

Meinen Eltern

	Seite
I. Einleitung	1
II. Material und Methode	9
III. Lichtmikroskopische Befunde	12
IV. Elektronenmikroskopische Befunde	16
V. Diskussion	21
VI. Zusammenfassung	27
VII. Literaturverzeichnis	
VIII. Bildmaterial	

Einleitung

Auf dem Gebiet der Teratologie wurden erst relativ spät experimentelle Untersuchungen durchgeführt, so von Wolff (1936) und Kaven (1939) (Röntgenstrahleneinfluß), Stockard (1921) und Becher (1939) (Sauerstoffmangel), sowie Mellanby (1941) (Vitamin-A Mangel).

Inzwischen sind zahlreiche Modelle bekannt geworden, mit deren Hilfe regelmäßig schwere Mißbildungen erzeugt werden können, die mit entsprechenden menschlichen Fehlbildungen übereinstimmen. Sie lassen sich grob nach den Ursachen in folgende Gruppen gliedern:

1. Physikalische Einflüsse wie Röntgenstrahlen, Hypothermie
2. Sauerstoffmangel
3. Vitaminmangel bzw. Überschuß (z.B. A, B, D oder E)
4. Anwendung von Antimetaboliten (Aminopterin, Asazerin, 6-Aminonicotinamid, Dexamethason, etc.)
5. Anwendung von Hormonen
6. Einwirkung von Viren (z.B. Influenza-A-Virus, New-castle-Virus)
7. Anwendung anderer Substanzen (z.B. Trypanblau, spezielle Antibiotika, etc.)

Betrachtet man im Vergleich dazu die ungeheure Anzahl wissenschaftlicher Veröffentlichungen über andere Gebiete, so scheint dem Problem der teratogenen Wirkung von Pharmaka bisher zu wenig Beachtung geschenkt worden zu sein. Dabei fordern die wenigen verfügbaren Daten eine Intensivierung dieser Untersuchungen geradezu heraus.

Als ein sehr wirksames Teratogen hat sich in den letzten Jahren 6-Aminonicotinamid (6-AN) erwiesen. Die Behandlung schwangerer Ratten mit dieser Substanz führt in Abhängigkeit von Zeitpunkt und Dosis zu Retardierungen und Mißbildungen. Vorwiegend Gaumenspalten sind zunächst als Folge dieser Behandlung beschrieben worden. Daneben können aber auch noch Mißbildungen des Gehirnes, des Skelettsystems und innerer Organe auftreten (Pinsky und Fraser, 1959 und 1960, Chamberlain und Nelson, 1963, Chamberlain, 1966 und 1970).

Es konnte gezeigt werden, daß Veränderungen hauptsächlich in ektodermalen Geweben wie Haut, Neuralleiste, Linse, Retina, Epithel der Mundhöhle, Zahnkeim, Keime der Hautdrüsen, Haare und Nägel auftreten. Neubert, Merker, Köhler, Krowke und Barrach (1970) geben hierfür folgende Erklärung:

1. Die kritische Konzentration des korrespondierenden Antimetaboliten wird in mesodermalen und endodermalen Geweben nicht erreicht.
2. Eine spezielle metabolische Situation der ektodermalen Zellen ermöglicht dem Antimetaboliten bevorzugt zu reagieren.

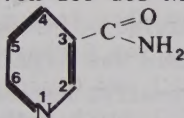
Um die teratogene Wirkung von 6-AN besser deuten zu können, ist es wichtig, einige toxikologische Probleme in diesem Zusammenhang zu erläutern.

Die Applikation von 6-AN, einem Antimetaboliten des Nicotinsäureamids, führt bei verschiedenen Versuchs-tieren zu bemerkenswerten pharmakologischen und toxikologischen Wirkungen. Schon 1955 wiesen Johnson und Mc Coll auf die biologische Aktivität von 6-AN

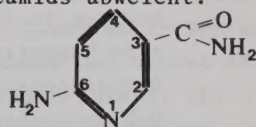
als Nicotinsäureantagonist hin.

Besonders auffällig sind die neurotoxischen Wirkungen, die Sternberg und Philips (1958), Wolf et al. (1959), Coper und Herken (1963) und Coper et al. (1966) als erste beschrieben. Sie äußern sich bei Albinoratten vor allem in einer irreversiblen spastischen Parese überwiegend der hinteren Extremitäten (Brunnemann et al., 1964, Herken et al. , 1973 und 1976, Meyer-Estorf, 1975).

Beim Menschen wurden nach Applikation von 6-AN neurotoxische Störungen in Form von irreversiblen Schäden des Gehörs beobachtet, als maligne Tumoren mit dem Antimetaboliten zu behandeln versucht wurden (Herter et al., 1961, Perlia et al., 1961). Die Verwendung als Krebschemotherapeuticum lag nahe, da die chemische Struktur des Antimetaboliten nur gering von der des Nicotinsäureamids abweicht.



Nicotinsäureamid



6-Aminonicotinamid

Versuche von Verrusio und Pollard (1968), Turbow und Chamberlain (1968) und Pollard und Fraser (1973) zeigten, daß die konkurrierende Gabe von Nicotinamid vor teratogenetischen Schäden bewahrt und erwachsene Tiere vor Lähmungen schützt. Allerdings reagierten nicht alle Mäusestämme auf die Niacindiät, über längere Zeit trat auch bei anfänglich diätsensiblen Stämmen eine Gewöhnung ein.

Inzwischen liegen auch einige Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus von 6-AN vor. 1964 führten Brunnemann, Coper und Neubert die toxische Wirkung von 6-AN auf den Einbau des Antimetaboliten in das NAD bzw. NADP-Molekül zurück. Diese Vermutung wurde 1970 von Barrach bestätigt. Es konnte nachgewiesen werden, daß 6-AN bei erwachsenen Tieren Nicotinamid in Pyridinnukleotiden ersetzen kann.

Dies kann geschehen, indem die NAD(P) Glykohydrolase die natürliche Base (Nicotinamid) gegen 6-AN im vorgefertigten Pyridinnukleotid austauscht oder 6-AN in eine völlig neue Synthesekette eingebaut wird. Die hieraus resultierenden atypischen Pyridinnukleotide, 6-ANAD und 6-ANADP, können kein Hydrogen in allen Dehydrogenasereaktionen aufnehmen.

Köhler und Neubert (1968) und Keller et al. (1972) konnten in in vitro Versuchen zeigen, daß es sich um eine kompetitive Hemmung von 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (6-P-G-D) und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G-6-P-D) durch 6-ANAD (P) handelt. Dabei reagiert die 6-P-G-D empfindlicher auf den Inhibitor als die G-6-P-D. Durch die Hemmung dieser Enzyme kommt es zur Blockade des oxydativen Pentose-Phosphatweges (PPZ), wodurch die Synthese von Fett- und Nucleinsäuren erheblich vermindert ist (Lange et al., 1970, Herken und Lange, 1969, Herken et al. 1974). Dies wirkt sich zwangsläufig auch sekundär auf den übrigen Zellstoffwechsel aus.

Des weiteren führt die Hemmung der 6-P-G-D zu einer Anreicherung von 6-Phosphogluconat, wodurch offenbar auch der nicht-oxydative Pentose-Phosphatweg beeinflusst wird (Meyer-Estorf, 1975).

Zur Beurteilung des Wirkungsmechanismus von 6-AN ist es weiterhin wichtig, auf die bisher dargestellten morphologischen Studien zurückzugreifen.

Anhand von elektronenmikroskopischen Befunden an embryonalen Geweben konnte H.-J. Merker et al. 1970 und H.-J. Merker 1974 nachweisen, daß nach Gabe von 5 mg/kg 6-AN bei Rattenembryonen die ersten Veränderungen nach etwa 20 Stunden am Epithel der Mundhöhle und der primitiven Zahnanlage erscheinen. Nach einer Gabe von 8 mg/kg sind bereits in allen ektodermalen Geweben Veränderungen zu beobachten. Anfänglich ist eine lokale Schwellung der perinukleären Cisterne feststellbar, danach nimmt die Schwellung zu. Die sich entwickelnde Höhle vergrößert sich derart, daß das Cytoplasma in die Peripherie der Zelle gedrängt wird. Der Kern liegt dann in der Mitte einer riesigen Vakuole und ist nur von wenig zerstreuten Cytoplasma umgeben. Zuweilen treten auch Schwellungen von einigen Hohlräumen des rauen ER auf. Alle anderen Zellorganellen bleiben intakt; bei einer heftigen Schwellung der perinukleären Cisterne nimmt die Größe und Anzahl der Organellen jedoch ab. Die Zahl der Mitosen ist verringert, einzelne Mitosen finden jedoch trotz der Veränderungen der Zellstrukturen statt.

Die allgemeine Verzögerung des Wachstums der Embryonen deutet darauf hin, daß die Proliferation gehemmt ist (Köhler und Neubert, 1968).

Am Neuralgewebe erwachsener Ratten konnten Schneider und Coper (1968), Schneider (1971), Schneider und Cervos-Navarro (1973) und Brzoska et al. (1974) ähnliche morphologische Effekte nachweisen.

Interessanterweise traten sie jedoch nur in bestimmten Gliazellen umschriebener Regionen auf. Die Wirkung ist also altersabhängig deutlich selektiver geworden. Die Neurone zeigen erst später wahrscheinlich sekundäre Zeichen einer Schädigung. Im einzelnen führten diese elektronenmikroskopischen Untersuchungen zu folgenden Ergebnissen:

12 Stunden nach einer Gabe von 5 bis 10 mg/kg 6-AN läßt sich eine Schwellung und Vakuolisierung der Oligodendroglia und Astroglia im zentralen Vorderhorn nachweisen. Die cytoplasmatischen Veränderungen in diesen Zellen der Neuroglia sind meist übereinstimmende Veränderungen von fortgeschrittener Zerstörung des rauen ER mit Verschwinden der Ribosomen und Erweiterung der tubulären und cisternalen Strukturen. Die perinukleäre Cisterne dehnt sich aus, der Kern wird zusammengedrückt und in einigen Fällen wie ein Halbmond verformt. Das Cytoplasma enthält feine Granula und relativ gut erhaltene Mitochondrien. Zu vergleichbaren Ergebnissen kam Seinsch (1974) bei Untersuchungen an der vorderen und hinteren Hypophyse.

Wodurch diese Entwicklung der elektronenmikroskopisch sichtbaren Veränderungen in den Zellen zustande kommt ist nicht bekannt. Es können als Erklärung der extremen Aufblähung der perinukleären Cisterne folgende Mechanismen diskutiert werden:

- a. Eine normale Schwellung dieser Hohlräume infolge ungenügender Energieversorgung (Einwässerung). Dann aber müßte die perinukleäre Cisterne eine spezielle Position einnehmen, da die anderen Zellorganellen relativ unverändert sind.

Außerdem ist die Morphologie der Mitochondrien nicht verändert.

- b. Eine vermehrte Bildung der äußeren Kermembran; gegen diese Erklärung spricht die Aufblähung durch die Vakuolen, die auf einen hohen Innendruck hinweist.
- c. Eine Sekretion bzw. eine Substanzstauung in diesem Raum; dieser Erklärung ist der Vorzug zu geben, da Austauschreaktionen zwischen Kern und Cytoplasma bekannt sind.

Aufgrund elektronenmikroskopischer Untersuchungen vermutet Brechler (1972), daß sich das nicht abgebaute 6-Phosphogluconat (Dehydrogenasehemmung) in den Auftreibungen der perinukleären Cisternen befindet.

Bei Durchsicht der Literatur wurde deutlich, daß über 6-AN-bedingte Mißbildungen an Zähnen bisher wenig bekannt geworden ist, obwohl das ektodermale Epithel der Mundhöhle stark betroffen erscheint. Merker und Novak (1970) konnten über eine akute Schädigung der Zahnanlage bei Ratten nach einer einmaligen Gabe von 8 mg/kg 6-AN jeweils am Tag 13 bis 17 der Schwangerschaft berichten. Dabei traten auch im Epithel der Zahnanlagen die typischen Veränderungen mit Blähungen der perinukleären Cisternen auf. Eine Retardierung des Wachstums mit der Differenzierung schien sich anzudeuten. Um diese vorläufigen Befunde im akuten Versuch zu erhärten und spätere Stadien der Zahnentwicklung mit zu berücksichtigen, wurden systematische Untersuchungen bei Ratten unter Einwirkung von 6-AN durchgeführt.

Im Kernpunkt dieser Arbeit stehen die licht- und elektronenmikroskopischen Befunde an der Zahnanlage bei Rattenembryonen nach Gaben dieser Substanz zu verschiedenen Zeitpunkten. Eine genaue Übersicht über die normale Zahnentwicklung beim Wistar-Rattenstamm FW 68 gibt Zimny (1970) in einer Arbeit, die als Grundlage für die exakte Erfassung teratogener Wirkungen an der Ratte dienen kann.

Material und Methode

Für die folgenden Versuche verwendeten wir einen eigenen Ratteninzuchtstamm, der aus dem Wistar-Stamm herausgezüchtet wurde (Stamm FW 68). Damit wurde der Forderung nach Trennung von Erb- und Umwelteinflüssen bei der Entstehung kongenitaler Mißbildungen Rechnung getragen. Die Tiere wurden in voll temperatur- und feuchtigkeitsgeregelten Räumen gehalten. Zur Errechnung des Proöstrus wurden die Muttertiere systematisch jeden Morgen nach dem Stadium des Östruszyklus untersucht. Die Wahl des Paarungszeitpunktes ergab sich aus der Tatsache, daß die Tiere durch künstliche Beleuchtung in Tag-Nacht-Umkehr gehalten wurden. Diese Methode wurde aus arbeits- und untersuchungs-technischer Erleichterung angewandt. Paarungsbereite Tiere wurden um 7.30 Uhr den Böcken zugesetzt, damit wurde der normale Begattungszeitraum (zwischen Mitternacht und 2 Uhr) verschoben. Zwei Stunden nach Bespringen wurde das Vaginalsekret auf Spermien untersucht. Wir weichen damit bewußt von der in Amerika üblichen Methode ab, welche eine Paarungszeit von 6-12 Stunden vorsieht; es ist offenkundig, daß durch die längere Paarungszeit die Bestimmung des wahrscheinlichen Konzeptionstermines erschwert wird. Dagegen war es uns möglich, exakt den Zeitpunkt der Befruchtung und damit auch das genaue Alter der Embryonen zu definieren.

Um 8.00 Uhr sind bereits 80% der Tiere Spermenpositiv. Die folgenden 24 Stunden, beginnend um 8.00 Uhr, werden als Tag 0 bzw. 1. Tag bezeichnet.

Am Tag 12, 13, 14 oder 15 erhielten die Muttertiere je eine i. p.-Injektion mit 10 mg/kg 6-AN, am Tag 16 5 mg/kg 6-AN. Die so behandelten Tiere wurden entweder 1, 2, 3, 4 oder 5 Tage nach der Injektion oder aber kurz vor dem voraussichtlichen Wurftermin am Tag 21 getötet. Hierdurch ließ sich der störende " Kannibalismus " der Muttertiere gegenüber mißgebildeten Jungtieren ausschalten. Nach der Entnahme der Embryonen aus dem Uterus wurden sie in toto entweder für lichtmikroskopische Untersuchungen in Carnoy'scher Lösung oder für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen in einem Gemisch aus Paraformaldehydlösung (3%) und Glutaraldehydlösung (3%) gelegt, die durch eine 0,1 M Phosphatlösung abgepuffert war (pH 7,4). Nach einigen Stunden erfolgte die Präparation der Embryonen für die Elektronenmikroskopie in dieser Lösung wie folgt:

Mit einem horizontalen Schnitt in Höhe der Augen parallel zum Verlauf des Oberkiefers wurde der größte Teil der Hirnanlage entfernt. Parallel dazu erfolgte der zweite Schnitt weiter caudal und trennte den Hals vom Unterkiefer. Die verbliebenen flach-ovalen Scheiben wurden zur Nachfixierung 2 Stunden in der Glutaraldehyd-Paraformaldehydlösung belassen. Nachdem die Präparate in einer Pufferlösung gespült waren, legten wir sie zum Nachfixieren in eine 1%ige OsO_4 -Lösung mit Phosphatpuffer. Anschließend erfolgte die Entwässerung in einer Acetonreihe und die Einbettung

in Petrischalen mit Mikropal. Nachdem die Präparate herausgesägt waren, stellten wir zur Bestimmung der Schnittrichtung Semidünnschnitte (1μ) her. Mittels einer Platinöse übertrugen wir sie auf einen Objektträger, um sie in einer 1%igen wässrigen Giemsa-Lösung mit Boraxzusatz zu färben. Danach fertigten wir Dünnschnitte von $0,05\mu$ Dicke mit LKB-Ultratomen und Reichert-Mikrotomen an. Diese wurden mit Uranylacetat und Bleizitrat nachkontrastiert und mit Siemens-Elektronenmikroskopen I und Ia untersucht. Bei einer Primärvergrößerung von 1 500 bis 30 000 wurden sie fotografiert. Zur Auswertung erfolgte eine erneute $3\frac{1}{2}$ fache Vergrößerung auf positiven Papierabzügen. Die lichtmikroskopischen Präparate wurden mit H.E. und PAS gefärbt.

Befunde

Lichtmikroskopische Befunde

Die normale Zahnentwicklung bei der Ratte läßt kurz zusammengefaßt folgende Entwicklungsstadien erkennen (siehe auch Zimny, 1970) :

In einem Embryonalalter von 15 Tagen erfolgt die erste Einziehung des primitiven Mundhöhlenepithels im Bereich der späteren Incisivusanlage in das darunter liegende Mesenchym. Diese Epithelsenkung wächst zu Beginn des Tages 16 schlauchförmig als Epithelzapfen in die Tiefe, um am Tag 16 und 8 1/2 endständig keulenförmig aufzutreiben. Glockenbildung ist nachzuweisen an der Incisivusanlage des Unterkiefers erst am Tag 17, an der Molar-1-Anlage am Tag 19, an der Molar-2-Anlage am Tag 20 bis 21 und an der Molar-3-Anlage erst am Geburtstag. Von diesem Zeitpunkt der Glockenbildung an kann äußeres und inneres Schmelzepithel unterschieden werden, die durch die Schmelzpulpa getrennt sind. Die Palisaderstellung der Adamantoblasten und Odontoblasten läßt sich jeweils erst ein bis zwei Tage nach Vollendung der Glockenbildung darstellen. Nach weiteren ein bis zwei Tagen liegt eine lichtmikroskopisch sicher faßbare organische Grundsubstanz mit den Anzeichen einer anorganischen Hartsubstanzbildung vor.

Molar-3 stellt jedoch eine Ausnahme dar, hier kommt es erst sehr spät zum Mineralisationsprozeß. Es besteht demnach ein mesio-distales

Reifungsgefälle während der Zahnentwicklung. Betrachtet man die Zahnentwicklung bei Ratten, die am Tag 12 bis 16 mit 6-AN behandelt waren, zusammenfassend, so ist eine deutliche Hemmung festzustellen. Bei den am Tag 21 fixierten Tieren treten Formen auf, die für frühere Stadien typisch sind, d.h. auf früheren Stadien stehen geblieben sind. Sehr mannigfaltige Bilder zeigen die Zahnanlagen von Embryonen, die am Tag 12 oder 13 mit 10 mg/kg 6-AN behandelt waren. Es lassen sich im Bereich der späteren Incisivusanlage verschiedene Entwicklungsstadien darstellen, angefangen von leichten Einsenkungen des primitiven Mundhöhlenepithels, über keulen-, kappen- und glockenförmige Zahnanlagen, die zum Teil noch mit dem Mundhöhlenepithel in Verbindung stehen, bis hin zu ersten Hartsubstanzbildungen im Bereich der Odontoblasten. Anders stellt sich die Zahnentwicklung bei Embryonen vom Tag 21 dar, die am Tag 14 oder 15 mit 10 mg/kg 6-AN behandelt waren. Hier kommt es zu einer besonders starken Retardierung. Diese Tiere erreichen als weitestes Entwicklungsstadium im Bereich der Incisivusanlage ein Übergangsstadium der Kappen- in die Glockenform. Bei den weiter distal durchgeführten Schnitten im Bereich der Molar-1 und Molar-2-Anlage war keine Zahnanlage aufzufinden. Gleiche Ergebnisse erbrachten schon die Serienschnitte des distalen Bereiches von Embryonen, die früher mit 6-AN behandelt waren (Tag 12 oder 13). Bis zum Tag 21 konnte nur eine Molarenanlage

nachgewiesen werden, und zwar bei einem Tier, dem am Tag 16 5 mg/kg 6-AN appliziert wurden. An dieser Molar-1-Anlage kann deutlich zwischen innerem und äußerem Schmelzepithel unterschieden werden, auch die Schmelzpulpa zeigt typische sternförmige Zellen. Die Anlage befindet sich im Gegensatz zu einer normal entwickelten Zahn-anlage im Stadium der Glockenform. Die Molaren-anlage eines unbehandelten Tieres weist zum Zeitpunkt der Geburt bereits eine Hartschmelzbildung auf. Ausschlaggebend für diese Befunde ist wahrscheinlich die teratogenetische Terminationsperiode.

Morphologisch ergibt sich bei Durchsicht der Serienschritte bei Tieren, die am Tag 12 bis 16 mit 6-AN behandelt waren, daß das äußere Schmelzepithel vergleichbar der normalen Zahnentwicklung wesentlich schmaler als das innere Schmelzepithel ist. Eine deutliche Grenze zwischen innerem und äußerem Schmelzepithel ist häufig nicht sichtbar, da die sternförmigen Epithelzellen der Schmelzpulpa fehlen oder nur in geringer Menge vorhanden sind. Zellgrenzen des inneren Schmelzepithels sind in manchen Schnitten nicht auszumachen, wodurch ein diffuses Bild von aneinandergelagerten Zellen entsteht. Ähnlich stellt sich das äußere Schmelzepithel dar, es besteht aus ungeordneten Zellen, die Einschichtigkeit des Epithels wird nicht deutlich. Selten ist eine Aufhellung und vakuolige Veränderung des Cytoplasmas der Epithelzellen der Mundhöhle bei den Embryonen der am Tag 12 oder 13

gespritzten Tieren sichtbar. Diese Aufhellung oder klein-bzw. großvakuolige Veränderung kommt bei den Embryonen der später gespritzten Tiere häufiger vor (Einzelheiten siehe elektronenmikroskopische Beschreibung).

Die Mesenchymverdichtung in der Anlage der Zahnpapille ist im Vergleich zur normalen Papille unbehandelter Tiere erheblich aufgelockerter. Eine stärkere Auflockerung des Mesenchyms ist oft bei der Anlage des Zahnsäckchens zu erkennen. Gefäße sind in der Zahnpapille selten vorhanden, jedoch häufig Nerven.

Insgesamt ergibt die Zahnanlage ein mehr verschwommenes Bild. Eine klare Gliederung der Gewebsbestandteile wie bei den unbehandelten Embryonen fehlt häufig.

Elektronenmikroskopische Befunde

Bei den am Tag 12 oder 13 gespritzten Tieren treten nach 20 Stunden im Bereich des Mundhöhlenepithels deutliche elektronenmikroskopisch faßbare Veränderungen auf. Zunächst beginnt sich die perinukleäre Cisterne zwischen den beiden Kernmembranen an einer oder mehreren Stellen zu erweitern. Diese Erweiterung wird anfangs noch durch die Kernporen, an deren Rändern die innere und äußere Membran der perinukleären Cisterne ineinander übergehen, begrenzt. Mit zunehmender Vergrößerung dieses Hohlraumes blähen sich aber immer mehr Bereiche der perinukleären Cisterne auf, sodaß Kernporen nur noch selten zu beobachten sind, d.h. offenbar verloren gehen. Schließlich wird die ursprünglich schmale perinukleäre Cisterne so groß, daß das Cytoplasma zu einem schmalen Streifen in der Peripherie der Zelle zusammengedrängt wird. Häufig bleibt dabei der Bereich des Golgi-Apparates in Kernnähe inselartig bestehen. Im peripheren Cytoplasmasaum, in den kernnahen inselartigen Plasmabezirken oder in den relativ unveränderten Cytoplasmaarealen der Restzelle sind Mitochondrien lokalisiert, die zwar kleiner aber sonst gegenüber den unbehandelten Kontrollen unverändert sind. Freie Ribosomen kommen vor, jedoch ist die Zahl der übrigen Zellorganellen z.B. der Vesikel, der Granula und der Hohlräume des rauhen ER deutlich verringert. Die Feinstruktur des Kerns ist trotz der tiefgreifenden Veränderungen im Randbereich

nicht signifikant verändert. Auch die Zellmembran und die Kontaktverhältnisse der Zellen untereinander zeigen keine auffälligen Merkmale. Selbst die Form der Zellen paßt sich dem charakteristischen Epithelverband an. Allerdings erstreckt sich die Aufblähung der perinukleären Cisterne im Epithel der Mundhöhle häufig in Richtung Oberfläche, d.h. sie ist einseitig lokalisiert. Dadurch kommt ein polares Bild zustande. Der Kern wird durch die entstehende Vakuole nach einer Seite häufig basalwärts gedrängt, während die Vakuole selbst den apikalen Teiler der Zelle bis auf den peripheren Cytoplasmasaum fast vollständig ausfüllt. Die oberflächlichen Schichten - wenn das Epithel mehrschichtig ist - und das sogenannte Periderm zeigen solche Veränderungen häufig erst später und nicht so ausgeprägt. Bei genauer Analyse dieses Mundhöhlenepithels 24 Stunden nach Gaben von 6-AN zeigt sich, daß trotz aller morphologisch faßbaren Veränderungen auch noch Mitosen nachweisbar sind. Die mitotischen Zellen lassen sich in völlig unveränderter Form aber auch mit entsprechenden Vakuolen im Cytoplasma nachweisen. Solche membranbegrenzten Hohlräume finden sich dann sowohl in direkter räumlicher Beziehung zu den chromosomalen Strukturen als auch in einiger Entfernung davon. Dieses Verhalten ist verständlich, da bei der Auflösung der Kernmembran am Anfang der Mitose Fragmente der Kernmembran entstehen, die in die Peripherie der Zelle driften. Vollkommen unabhängig ist das Auftreten von Vakuolen vom Mitose-

stadium; es können sowohl Prophasen mit und ohne Vakuolen, als auch z.B. Telophasen mit solchen Veränderungen beobachtet werden.

Die hier beschriebenen Veränderungen nach Gaben von 6-AN am Tag 12 oder 13, d.h. zu einem Zeitpunkt, an dem noch keine Zahnanlagen morphologisch sichtbar sind, lassen sich auch zu späteren Applikationszeiten (Tag 14 bis 16) in den nun bereits entwickelten Zahnanlagen nachweisen.

Da hier aber eine übliche basal-apikale Achse nicht mehr deutlich vorhanden ist, ist die Polarität der beschriebenen Veränderungen auch nicht mehr so deutlich ausgebildet. Die Erweiterung der perinukleären Cisterne ist also jetzt in allen Zellarealen ohne eine besondere Vorzugsrichtung zu erkennen. Zusätzlich zu den beschriebenen Veränderungen kommen nach einer Applikation des 6-AN zu einem späteren Zeitpunkt (Tag 14 bis 16) auch noch Erweiterungen der endoplasmatischen Hohlräume in den Zellen vor, die keine extreme Aufblähung der perinukleären Cisterne zeigen.

Die vakuolige Veränderung der perinukleären Cisterne und vereinzelt auch der endoplasmatischen Hohlräume erklären das weiter vorn bereits beschriebene Auftreten im lichtmikroskopischen Bild auch mehr kleinvakuoliger Zellen. In diesem Vergrößerungsbereich können die am häufigsten vorkommenden großen hellen Zellen oder aber Zellen mit einer großen Zellvakuole erfaßt werden, ohne daß jedoch der Kern Zeichen einer Schädigung z.B. einer

Pyknose zeigt. Da der dünne Cytoplasmasaum häufig an der Grenze des lichtmikroskopischen Auflösungsvermögens liegt, sind die Aufhellung des Gesamtcytoplasmas und die großvakuoligen Veränderungen durchaus verständlich.

In den Embryonen der Tiere, die am Tag 12 oder 13 mit 6-AN behandelt waren, ist licht- und elektronenmikroskopisch zum Zeitpunkt der Geburt diese Veränderung nur noch selten nachweisbar. Viel häufiger dagegen finden sich die vakuoligen Umwandlungen der Epithelzellen noch im Bereich des Mundhöhlen- also Oberflächenepithels. Aufgrund dieser elektronenmikroskopischen Befunde kann angenommen werden, daß die Aufblähung der perinukleären Cisterne 20 Stunden nach Applikation von 6-AN beginnt und dann 5 Tage voll erhalten bleibt. Danach nimmt das Ausmaß dieser Schwellung ab und die Feinstruktur der Zelle nähert sich wieder dem normalen Bild. Die neugebildeten Epithelzellen der Zahnanlagen dagegen zeigen höchstens noch vereinzelt solche Veränderungen. Dabei entstehen ähnliche Bilder wie sie beim Auftreten der Veränderungen beschrieben wurden. Nach dem völligen Abklingen dieser Zeichen einer 6-AN-Wirkung unterscheidet sich das elektronenmikroskopische Bild der Epithelzellen in der Zahnanlage nicht mehr von normalen Verhältnissen. Zum Zeitpunkt der Geburt kann also nur durch Berücksichtigung des histiotypischen Bildes bzw. des Reifegrades der Zahnanlage entschieden werden, ob eine Substanzwirkung vorhanden war oder nicht, da deutliche cytologische Zeichen

für die vorhergegangenen Einflüsse nur noch im Mundhöhlenepithel zu finden sind.

Bei den am Tag 15 oder 16 gespritzten Tieren lassen sich noch die 6-AN-typischen Vakuolen im Epithel der Zahnanlage sowohl im licht- als auch im elektronenmikroskopischen Vergrößerungsbereich erfassen. Häufig finden sich hier allerdings neben umschriebener Erweiterung der perinukleären Cisterne Aufblähungen endoplasmatischer Hohlräume. Dadurch kommt im Lichtmikroskop ein kleinvakuoliges Bild zustande.

Bei der Befunderhebung sind gerade diese Veränderungen im Epithel sehr ausgeprägt und fallen nicht zuletzt deshalb ins Auge, weil sie fast alle Epithelzellen betreffen. Die Mesenchymzellen der Pulpanlage sowie in der Umgebung des Zahnkeimes stellen sich dagegen nicht so einheitlich dar. Eine große Zahl von Mesenchymzellen zeigen keine Veränderungen, an manchen Stellen finden sich aber einzeln oder gruppiert Zellen, die die bereits oben beschriebenen charakteristischen Zeichen einer 6-AN-Wirkung aufweisen:

Aufblähung der perinukleären Cisterne und einzelner endoplasmatischer Hohlräume. Das Ausmaß dieser Veränderungen ist sehr variabel. Unabhängig vom Zeitfaktor findet man in manchen Zellen nur andeutungsweise Schwellungserscheinungen, in anderen dagegen extreme Aufweitungen bis in die Peripherie der Zelle. Der zeitliche Ablauf dieser Veränderungen entspricht den Verhältnissen im Epithel.

Diskussion

In der Einleitung wurde vermutet, daß die bereits bekannte akute Schädigung der Zahnanlage durch 6-AN (Merker und Novak, 1970) zu einer längerzeitigen Beeinflussung der Zahnentwicklung führen müßte. Diese Schädigung konnte nach den vorliegenden Befunden eindeutig zum Geburtszeitpunkt nachgewiesen werden. Das Ausmaß der Schädigung ist dabei deutlich abhängig vom Zeitpunkt der Applikation der Substanz, d.h. von der Entwicklungsphase zur Einwirkungszeit. Damit entspricht dieses Verhalten den klassischen Vorstellungen von der sogenannten kritischen Phase der Teratologen (Merker, 1976). Allerdings muß bei der Zahnentwicklung zusätzlich noch das mesio-distale Reifungsgefälle berücksichtigt werden. Während bei einem Applikationszeitpunkt des 6-AN am Tag 12 oder 13 zum Geburtstermin sehr verschiedene Hemmeffekte, d.h. unterschiedliche Entwicklungsstadien auftreten - angefangen von leichten Einsenkungen des Mundhöhlenepithels, über keulen- und glockenförmige Zahnanlagen, bis hin zu ersten Hartschubstanzbildungen - finden sich nach Injektion am Tag 14 oder 15 nur primitive Zahnanlagen. Als höchstes Entwicklungsstadium konnte hier eine frühe Übergangsform von der kappen- in die glockenförmige Zahnanlage an einer Incisivusanlage beobachtet werden. Anders stellt sich die Zahnentwicklung von Tieren, deren Mütter am Tag 16 mit 5 mg/kg 6-AN behandelt wurden, dar. Bei einem dieser Embryonen konnte eine Molarenanlage nachgewiesen werden, die sich im

höchsten Stadium der Glockenbildung befindet. Aus diesem fortgeschrittenen Stadium der Zahnentwicklung bei einer relativ niedrigen Dosis läßt sich schließen, daß der Wirkungsgrad der Schädigung dosisabhängig ist.

Der morphologisch für andere Gewebstypen und Organe von Rattenembryonen nachgewiesene Erholungseffekt nach teratogenen Gaben von 6-AN (Merker, persönliche Mitteilung) kann auch an unserem Material bestätigt werden. Die cytologischen Zeichen einer Substanzwirkung sind aber im Bereich der Zahnanlage doch 5 Tage noch deutlich elektronenmikroskopisch faßbar. In den früh gespritzten Tieren (Tag 12 oder 13) erscheinen deshalb die meisten Zellen der Zahnanlage zum Geburtszeitpunkt wieder normal. Damit geht auch eine " funktionelle " Normalisierung einher. Zum Applikationszeitpunkt hat bei diesen Tieren die Zahnentwicklung noch nicht begonnen. Das Epithel und in einem gewissen Maße auch das Mesenchym beginnen dann 5 Tage später trotz Behandlung nach Abklingen der Veränderung die Entwicklung nachzuvollziehen. Bei den später behandelten Tieren (Tag 15 oder 16) ist zur Geburt dieser Zeitpunkt gerade erreicht. Sie hatten deshalb nicht mehr viel Zeit zur Kompensation des Behandlungseffektes. Die lichtmikroskopisch nachweisbare Entwicklungsphase entspricht etwa der Applikationszeit mit einem Verzögerungsfaktor von 24 Stunden. Die Zahnanlagen sind also offenbar nach Ausbildung der cytologischen Veränderungen " eingefroren " worden.

Es kann allein morphologisch nicht entschieden werden, ob die wieder anlaufende Entwicklung der Zähne zu einem vollständigen Ergebnis, zu einer *restitutio ad integrum* führt. Die Nachprüfung der Vorstellung über die Kompensationspotenz der geschädigten Zahnanlagen könnte über die Verfolgung der postnatalen Zahnentwicklung möglich sein. Leider gelingt aber dieser Versuch, obwohl er durchgeführt wurde, nicht. Hierbei wirkte das Phänomen des " Kannibalismus " der Muttertiere gegenüber mißgebildeten Jungtieren sehr störend. So wurde bei 4 Muttertieren am Tag 16 6-AN appliziert und die Geburt abgewartet. Bereits am Morgen nach der Geburt waren die in normaler Zahl geborenen Tiere von den Muttertieren aufgefressen worden. Dieses Verhalten spricht für eine tiefgreifende teratogene Schädigung der Neugeborenen. Es werden also nicht nur Mißbildungen und Retardierungen im Zahnbereich, sondern auch noch andere schwerwiegende teratogene Effekte vorhanden gewesen sein. Nur dann kommt es nämlich zu diesem hundertprozentigen " Kannibalismus " .

Aus diesen Befunden geht klar hervor, daß Zahnmißbildungen eventuell auch Agenesien durch einen Einfluß von außen, z.B. durch eine teratogene Wirkung von Arzneimitteln erzeugt werden können. Über dieses Gebiet ist nur wenig Sicheres bekannt. Über genetisch bedingte Veränderungen und Störungen der Zahnentwicklung bestehen dagegen schon klare Vorstellungen (Spreter von Kreudenstein, 1939, Schulze, 1956, Taatz, 1969, Warkany, 1971).

Es erscheint deshalb sinnvoll, entwicklungsbedingte Veränderungen der Zahnmorphologie auch unter einem teratogenen Aspekt zu sehen und nicht sicher genetisch bedingte Abweichungen in diesem Sinne - z.B. durch retrospektives Vorgehen, Anamnese - anzugehen.

Die noch bestehende Unkenntnis der Ursachen, die schließlich zu einer maximalen Aufblähung der perinukleären Cisterne führen, konnte auch in unseren Versuchen etwa durch typische hinweisende elektronenmikroskopische Bilder nicht verringert werden. Am wahrscheinlichsten erscheint noch die Deutung von Brechler (1972), der einen Aufstau von 6-Phosphogluconat in diesem Hohlraum vermutete, der durch die 6-AN-bedingte Hemmung der 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase entstehen könnte (Roetz, 1975). Diese Vorstellung erklärt aber nicht, warum fast nur dieser Hohlraum und vorwiegend nur ektodermale Zellen betroffen sind (Merker et al., 1970, Neubert et al., 1970, Novak und Merker, 1970). Es konnten natürlich in den anderen Zellen und in den übrigen membranbegrenzten Hohlräumen andere Phosphogluconat-abbauende Enzyme vorhanden sein, die einen Aufstau verhindern, z.B. Phosphatasen. Obwohl einige Befunde in diese Richtung zu weisen scheinen (Keller et al., 1976), führten histochemische Untersuchungen, die diese Wirkungsunterschiede exakt lokalisieren können, bisher nicht zum gewünschten Erfolg (Merker, persönliche Mitteilungen).

Interessant aus allgemein-embryologischer Sicht

ist die bevorzugte Reaktion der ektodermalen Zellen nach Gaben von 6-AN. In den ersten Arbeiten (Merker et al., 1970, Novak und Merker, 1970) ließen sich -bedingt durch die typischen Schwierigkeiten der elektronenmikroskopischen Technik, z.B. geringe Schnittgröße - ausschließlich im Ektoderm solche Veränderungen nachweisen. Die Bestätigung dieses Befundes hätte einen interessanten Beitrag zum Problem der Existenz einer Keimblattspezifität dargestellt, bzw. die Richtigkeit der sogenannten Keimblatt-Theorie bestätigt. Die alleinige Reaktion nur eines Keimblattes hätte ohne Zweifel für die Existenz von Keimblättern gesprochen. Diese Theorie ist in letzter Zeit etwas durch die zahlreichen modernen biochemischen Befunde über die Möglichkeit einer Kernstimulierung in verschiedenen Differenzierungsrichtungen etwas relativiert worden. Leider konnte aber dieser Befund als Grundlage einer Diskussion dieses Problems nicht verwendet werden, nachdem bei genauer morphologischer Analyse auch im Mesenchym der Zahnanlage 6-AN-typische Veränderungen gefunden wurden. Allerdings kann hier argumentiert werden, daß auch das Mesenchym dieser Lokalisation Abkömmling des Ektoderms ist, entstanden aus der Neuralleiste des Kopfbereiches. Inzwischen sind aber charakteristische 6-AN-Effekte auch im Mesenchym der Extremitätenknospe gefunden worden (Roetz, 1975). Eine Verwendung der cytologischen 6-AN-Wirkung

zur Diskussion dieser Problematik ist deshalb nicht mehr sinnvoll.

Trotz aller Unsicherheiten über den Wirkungsmechanismus der Substanz im Embryo und über die Faktoren, die schließlich die Mißbildungen erzeugen, erscheint dieser Fall einer exogenen, arzneimittelbedingten Schädigung der Zahnentwicklung doch sehr interessant zu sein. Das Modell kann für das weitere Studium von Zahnentwicklungstörungen genutzt werden.

Zusammenfassung

Es wurden licht- und elektronenmikroskopisch die Veränderungen bei der Zahnentwicklung der Ratte (Stamm FW 68) nach Gaben von 6-AN untersucht. Hierzu wurden schwangere Ratten am Tag 12, 13, 14 oder 15 mit je 10 mg/kg bzw. am Tag 16 mit 5 mg/kg 6-AN gespritzt. Die Embryonen wurden zu verschiedenen Zeiten danach und etwas vor dem Geburtstermin am Tage 21 präpariert. Die lichtmikroskopischen Untersuchungen ergaben folgende pathologische Befunde der Zahnentwicklung:

Die Embryonen der am Tag 12 oder 13 behandelten Muttertiere zeigten eine deutliche Hemmung der Zahnentwicklung. Es lassen sich variable Entwicklungshemmungen der Zahnanlagen - angefangen von keulen-, kappen- und glockenförmigen Zahnanlagen, bis hin zu ersten Hartschubstanzbildungen - darstellen. Sie treten bei der normalen Zahnentwicklung zum Geburtszeitpunkt nicht mehr auf. Es ist also zu einer Verzögerung der Zahnentwicklung gekommen. Stärkere Retardierungen treten bei den Tieren, die zu einem späteren Zeitpunkt (Tag 14 oder 15) mit 6-AN behandelt waren, auf. Hier konnte als höchstes Entwicklungsstadium einer Incisivusanlage eine Übergangsform von der Kappen- in die Glockenform beobachtet werden.

Morphologisch stellt sich das Epithel vakuolig verändert dar. Am häufigsten kommen große helle Zellen oder aber Zellen mit einer großen Zell-

vakuole vor.

Im Elektronenmikroskop läßt sich eine Aufblähung der perinukleären Cisterne und einzelner Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Retikulums beobachten. Das Cytoplasma wird in die Peripherie der Zelle gedrängt, ohne daß die restlichen Zellorganellen wesentliche Veränderungen zeigen. Mitosen finden trotz der Veränderung statt.

Die Mesenchymzellen stellen sich nicht so einheitlich dar. Bei ihnen finden sich nur in einzelnen Fällen die oben beschriebenen charakteristischen Zeichen einer 6-AN-Wirkung. Die 6-AN-bedingten Veränderungen verschwinden nach 5 Tagen wieder. Die neugebildeten Zellen der Zahnanlagen zeigen solche Veränderungen nur noch sehr vereinzelt. Von diesem Zeitpunkt an können die Zellen offenbar wieder ihre Funktion voll erfüllen und weiter differenzieren.

Dadurch holen die früh gespritzten Tiere einen Teil der Entwicklung nach, während die später gespritzten Tiere bei einer Entwicklungsphase stehen bleiben, die etwa dem Wirkungseintritt der Substanz entspricht.

Es werden die unterschiedlich starke Retardierung abhängig vom Applikationszeitpunkt und von der Kompensationspotenz der Zahnanlage und die Reaktion der verschiedenen Keimblätter sowie der Wirkungsmechanismus im Zusammenhang mit den Ursachen der cytologischen Veränderungen diskutiert.

Literaturverzeichnis

- BARRACH, H.-J. Effect of 6-aminonicotinamide on the glucose metabolism of mammalian embryonic tissue. Metabolic pathways in mammalian embryos during organogenesis and its modification by drugs
365-384 (1970)
- BECHER, H. Über die Embryonalentwicklung bei verschiedenen Druckverhältnissen. Verh. Anat. Ges., Erg.-H. Anat. Anz.
88 47 (1939)
- BRECHLER, R. Untersuchungen über den Gaumenschluß bei normalen und 6-AN-behandelten Rattenembryonen in vitro. Diss. med. Fak. FU Berlin
 (1972)
- BRUNNEMANN, A.,
COPER, H. u.
NEUBERT, D. Biosynthese und Wirkung des 6-Aminonicotinamid-adenindinucleotids. Naunyn Schmiedebergs Arch. exp. Path. u. Pharmak.
246 437-451 (1964)
- BRZOSKA, H. R.,
ADHAMI, H. u.
STREIT, W. Electronmicroscopic studies of the effect of 6-aminonicotinamide on the spinal ganglia and radix dorsalis of newborn rats. VII. Congr. Internat. Neuropath.
 (1974)
- CHAMBERLAIN, J. G. u.
NELSON, M. M. Congenital abnormalities in the rat resulting from single injections of 6-aminonicotinamide during pregnancy. J. exper. Zool.
153 285-299 (1963)
- CHAMBERLAIN, J. G. Development of cleft palate induced by 6-aminonicotinamide late in rat gestation. Anat. Rec.
156 31-40 (1966)

- CHAMBERLAIN, J. G. Early neurovascular abnormalities underlying 6-aminonicotinamide induced congenital hydrocephalus in rats.
Teratology
3 377-388 (1970)
- COPER, H. u. Schädigung des ZNS durch Anti-
HERKEN, H. metaboliten des Nicotinsäureamids.
Deutsche med. Wschr.
88 2025-2036 (1963)
- COPER, H., Untersuchungen zum Mechanismus
HADDAS, H. u. zentralnervöser Funktionsstörungen
LISON, H. durch 6-Aminonicotinamid.
Naunyn Schmiedebergs Arch. exp.
Path. u. Pharmak.
255 96-106 (1966)
- HERKEN, H. u. Blocking of pentose phosphate
LANGE, K. pathway in the brain of rats
by 6-aminonicotinamide.
Naunyn Schmiedebergs Arch. exp.
Path. u. Pharmak.
263 496-499 (1969)
- HERKEN, H., Experimentelle Myelopathie. -
KELLER, K., Biochemische Grundlagen ihrer
KOLBE, H., cellulären Pathogenese.
LANGE, K. u. Klin. Wschr.
SCHNEIDER, H. 51 644-657 (1973)
- HERKEN, H., Antimetabolic action on the
LANGE, K., pentose phosphate pathway in the
KOLBE, H. u. central nervous system induced by
KELLER, K. 6-aminonicotinamide.
Central nervous system-studies
on metabolic regulation and
function.
Springer Berlin-Heidelberg-
New York
41-54 (1974)
- HERKEN, H., Spastic paresis after 6-amino-
MEYER-ESTORF, G., nicotinamide: metabolic disorders
HALBHÜBNER, K. u. in the spinal cord and electro-
LOSS, D. myographically recorded changes
in the hind limbs of rats.
Naunyn Schmiedebergs Arch. exp.
Path. u. Pharmak.
293 245-255 (1976)

- HERTER, F. P.,
WEISMAN, S. G.,
TOMPSON, H. G.,
HYMAN, G. u.
MARTIN, D. S.
JOHNSON, W. J. u.
MC COLL, J. D.
- HERTER, F. P.,
WEISMAN, S. G.,
TOMPSON, H. G.,
HYMAN, G. u.
MARTIN, D. S.
- JOHNSON, W. J. u.
MC COLL, J. D.
- KAVERN, A.
- KELLER, K.,
KOLBE, H.,
LANGE, K. u.
HERKEN, H.
- KELLER, K.,
KOLBE, H.,
HERKEN, H. u.
LANGE, K.
- KÖHLER, E. u.
NEUBERT, D.
- Clinical experience with 6-AN.
Cancer Res.
21 31-37 (1961)
- 6-aminonicotinamide, a potent
nicotinamide antagonist.
Science
122 834 (1955)
- Röntgenmodifikationen bei Mäusen
Z. menschl. Vererb.-u. Konsti-
tutionslehre
22 238 (1939)
- Das Auftreten von Gehirnmiß-
bildungen nach Röntgenbestrahlung
von Mäuseembryonen.
Z. menschl. Vererb.-u. Konsti-
tutionslehre
22 247 (1939)
- Behaviour of the glycolytic
system of rat brain and kidney
in vivo after inhibition of the
glucose phosphate isomerase.
II. Hoppe-Seylors Z. physiol.
Chem.
353 1389-1400 (1972)
- Glycolysis and glycogen meta-
bolism after inhibition of
hexose monophosphate pathway
in C₆-glial cells.
Naunyn Schmiedebergs Arch. exp.
Path. u. Pharmak.
294 213-215 (1976)
- Aktivität NADP-bedürftiger
Oxydoreduktasen im embryonalen
Gewebe der Ratte.
Naunyn Schmiedebergs Arch. exp.
Path. u. Pharmak.
260 154-156 (1968)

- LANGE, K.,
 KOLBE, H.,
 KELLER, K. u.
 HERKEN, H.
- Der Kohlehydratstoffwechsel des
 Gehirns nach Blockade des
 Pentose-Phosphat-Weges durch
 6-Aminonicotinsäureamid.
 Hoppe-Seylors Z. physiol. Chem.
 351 1241-1252 (1970)
- MELLANBY, H.
- The effect of maternal dietary
 deficiency of vitamin A on
 dental fissures in rats.
 J. dent. res.
 20 489 (1941)
- MERKER, H.-J. u.
 NOVAK, L.
- Störungen der Zahnentwicklung bei
 Rattenembryonen nach Gabe von
 6-AN.
 Sep. Exp.
 26 1127 (1970)
- MERKER, H.-J.,
 NOVAK, L. u.
 ZIMMERMANN, B.
- Elektronenmikroskopische
 Untersuchungen über die Wirkung
 von 6-AN auf Säugetierembryonen.
 Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.
 Path. u. Pharmak.
 266 401 (1970)
- MERKER, H.-J.
- Morphological studies on the
 effect of 6-aminonicotinamide
 in rat embryos.
 Metabolic pathways in mammalian
 embryos during organogenesis
 and its modification by drugs.
 Freie Universität Berlin
 385-387 (1970)
- MERKER, H.-J.
- Some considerations on the
 problem of critical period.
 Titisee-Symposium, Ex. Med.
 Foundation (im Druck)
 (1976)
- MEYER-ESTORF, G.
- Untersuchungen zur Pathogenese
 der experimentellen Myelopathie
 nach 6-Aminonicotinsäureamid.
 Diss. Freie Universität Berlin
 (1975)

- NEUBERT, D.,
MERKER, H.-J.,
KÖHLER, E.,
KROWKE, R. u.
BARRACH, H.-J. Biochemical aspects of teratolog
Advances in the biosciences
Pergamon Press-Vieweg
Braunschweig
6 575-622 (1970)
- OFORI-NKANSAH, N. u. Metabolic alternations in
yoshida ascites tumor cells
caused by 6-AN and prevented
by nicotinamide.
Naunyn Schmiedebergs Arch. exp.
Path. u. Pharmak.
272 156-168 (1972)
- PERLIA, C. P.,
KOFMAN, S.,
SHY-PECK, H. u.
TAYLOR, S. A. Clinical use of 6-aminonicotinam
in patients with disseminated
neoplastic disease.
Cancer
14 644-648 (1961)
- PINSKY, L. u.
FRASER, F. C. Production of skeletal mal-
formations in the offspring
of pregnant mice treated with
6-aminonicotinamide.
Biol. Neonat.
1 106-112 (1959)
- POLLARD, D. R. u.
FRASER, F. C. Congenital malformations after
a two hour inactivation of
nicotinamide in pregnant mice.
Brit. Med. J.
2 195-197 (1960)
- POLLARD, D. R. u.
FRASER, F. C. Induction of a cytoplasmic
factor increasing resistance
to the teratogenic effect of
6-AN in mice.
Teratology
7 267-270 (1973)
- ROETZ, R. Histochemical and electron-
microscopical studies on the
mechanism of the teratogenic
action of 6-aminonicotinamide.
New approaches to the evaluation
of abnormal embryonic development
Georg Thieme Stuttgart
659-677 (1975)

- SCHNEIDER, H. u.
COPER, H. Morphologische Befunde am Zentralnervensystem nach Vergiftung mit Antimetaboliten des Nicotinamids (6-Aminonicotinsäureamid und 3-Acetylpyridin) und einem Chinolinderivat (5-Nitro-8-hydroxychinolin) Arch. Psychiat. Z. ges. Neurol. 211 138-154 (1968)
- SCHNEIDER, H. Elektronenmikroskopische Befunde bei selektiven Läsionen der spinalen grauen Substanz. Untersuchungen am Modell der 6-Aminonicotinamid-Intoxikation und der temporären Ischämie. Habilitationsschrift FU Berlin (1971)
- SCHNEIDER, H. u.
CERVOS-NAVARRO, J. Acute gliopathy in spinal cord and brain stem induced by 6-AN Acta neuropath. 27 11-23 (1974)
- SCHULZE, CHR. Erbbedingte Struktur anomalies menschlicher Zähne. Die Zahn-, Mund-, Kieferheilkunde I. Band München-Berlin (1956)
- SEINSCH, W. The effect of 6-AN on the morphology of the pituitary of rat embryos. III. Conference of the european teratology society (1974)
- STERNBERG, S. S. u.
PHILIPS, F. S. 6-aminonicotinamide and acute degenerative changes in the central nervous system. Science 127 644-646 (1958)
- STOCKARD, CH. R. Development rate and structural expression: an experimental study of twins, " double monsters " and single deformities, and the interaction among embryonic organs during their origin and development Amer. J. Anat. 28 115 (1921)

- SPRETER v.
KREUDENSTEIN, TH. Experimentelle Beiträge zur
Pathologie der Zahnhartgewebs-
entwicklung (Leipzig).
(1939)
- TAATZ, H. Grundlagen der Kariologie und
Endodontie.
Carl Hanser Verlag München
105-107 (1969)
- TURBOW, H. u.
CHAMBERLAIN, J. G. Direct effects of 6-AN on the
developing rat embryo in vitro
and in vivo.
Teratology
1 103-108 (1968)
- VERRUSIO, A. C.,
POLLARD, D. R. u.
FRASER, F. C. A cytoplasmatically transmitted,
diet-dependent difference in
response to the teratogenic
effects of 6-AN.
Science
160 206-207 (1968)
- WARKANY, J. Congenital malformations.
Year book medical publishers
831 902-903 (1971)
- WOLF, A. u.
COWEN, D. Pathological changes in the
central nervous system produced
by 6-aminonicotinamide.
Bull. N. Y. Acad. Med.
35 814-817 (1959)
- WOLFF, E. Les bases de la tératogénèse
expérimentale des vertébrés
amniotes d'après les résultats
de méthodes directes.
Arch. d'Anat.
22 1 (1936)
- ZIMNY, F. Die normale Zahnentwicklung bei
der Ratte des Stammes FW 68 bis
zur Geburt.
Diss. Freie Universität Berlin
(1970)

A B B I L D U N G E N

Abb. 1

Rattenembryo Tag 21

(Sagitalschnitt, HE-Färbung)

Schnitt durch die Zahnanlage
eines Incisivus.

Kappenförmige Dentinscheibe
mit Beginn der Schmelzbildung.

Vergrößerung 1 : 35

Abb. 2

Rattenembryo Tag 21

(Frontalschnitt, HE-Färbung)

Schnitt durch die Zahnanlage
eines oberen Incisivus.

Dentinbildung im Bereich der
Odontoblasten, angedeutete
Palisadenstellung.

Vergrößerung 1 : 60

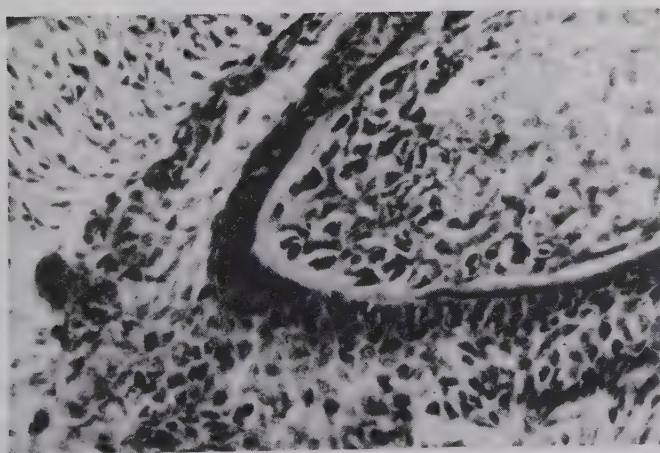
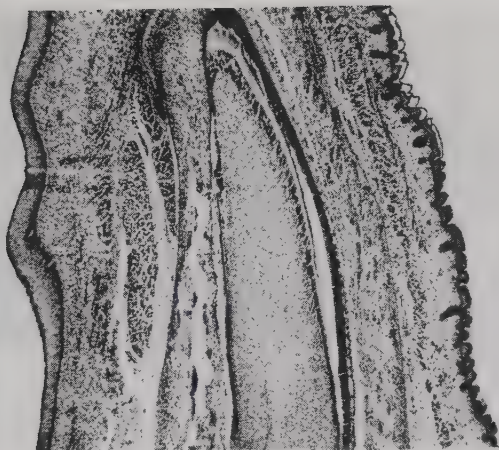


Abb. 3

Rattenembryo Tag 21
(Sagitalschnitt, HE-Färbung)
Schnitt durch den 1. und 2.
Molaren.
Vergrößerung 1 : 45

Abb. 4

Rattenembryo Tag 21
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Schnitt durch die Zahnanlage
eines oberen Molaren.
Beginn der Odontoblasten-
differenzierung.
Vergrößerung 1 : 60



Abb. 5

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 12 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Schnitt durch die Zahnanlage
eines Incisivus.
Beginn des kappenförmigen Stadiums;
noch vakuolige Veränderung in
einigen Epithelbereichen.
Vergrößerung 1 : 180

Abb. 6

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 12 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Schnitt durch die Zahnanlage
eines Incisivus.
Kappenförmiges Stadium der Zahn-
anlage; nur geringe Mesenchym-
verdichtung, gut sichtbar der
Meckel' Knorpel.
Vergrößerung 1 : 140

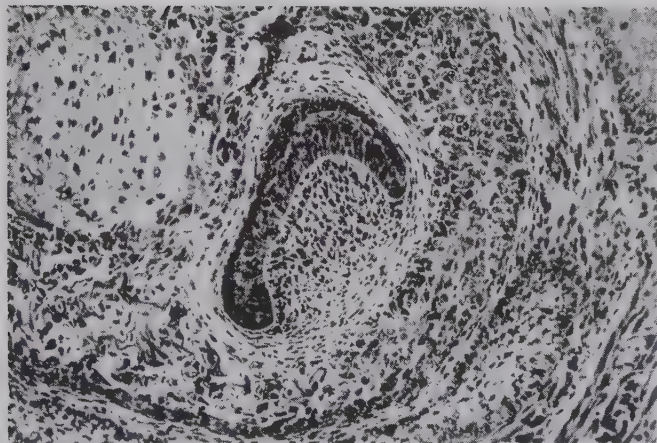
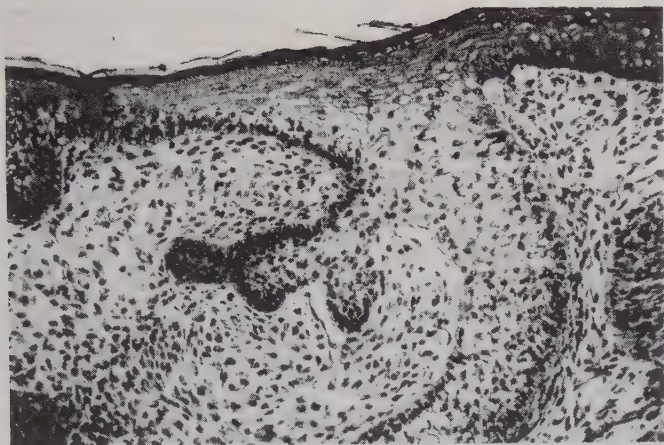


Abb. "

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 12 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Schnitt durch die Zahnanlage
eines Incisivus.
Kappenförmiges Stadium;
vakuolige Veränderung einzelner
Epithelzellen noch deutlich sichtbar.
Vergrößerung 1 : 180

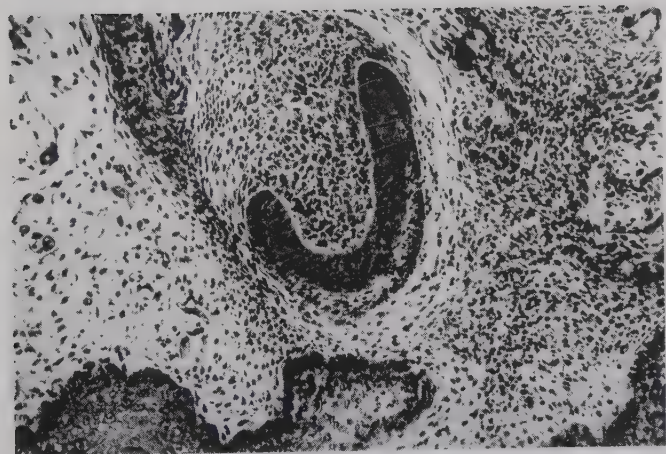


Abb. 8

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 12 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Glockenform einer Incisivusanlage
des Oberkiefers. Das innere
Schmelzepithel ist stärker
ausgeprägt als das äußere;
die Schmelzpulpa ist schlecht sichtbar.
Vergrößerung 1 : 140

Abb. 9

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 12 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Zahnanlage eines oberen Incisivus
mit Palisadenstellung der
Adamantoblasten und Odontoblasten.
Vergrößerung 1 : 140

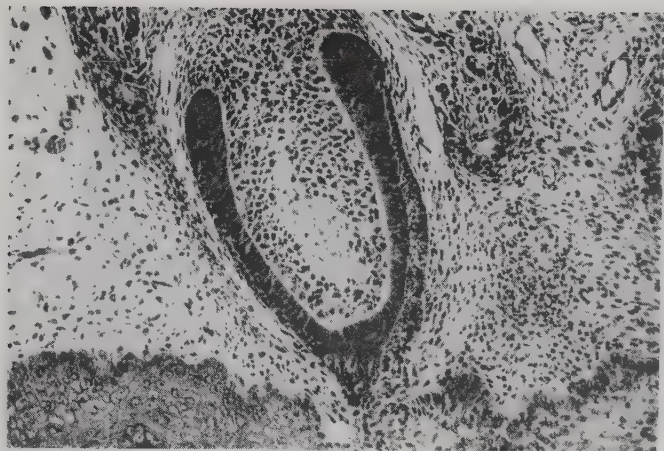


Abb. 10 und 11

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 13 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Incisvusanlage des Oberkiefers
als keulenförmige Epitheleinstülpung
des Mundhöhlenepithels.
Einzelne Vakuolen im Oberflächenepithel.
Vergrößerung 1 : 140

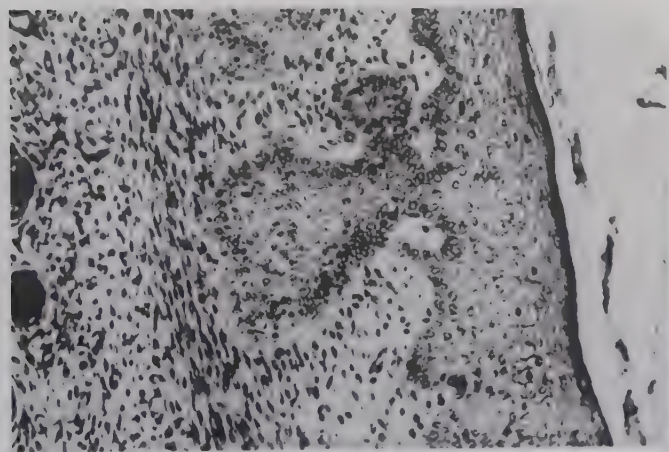
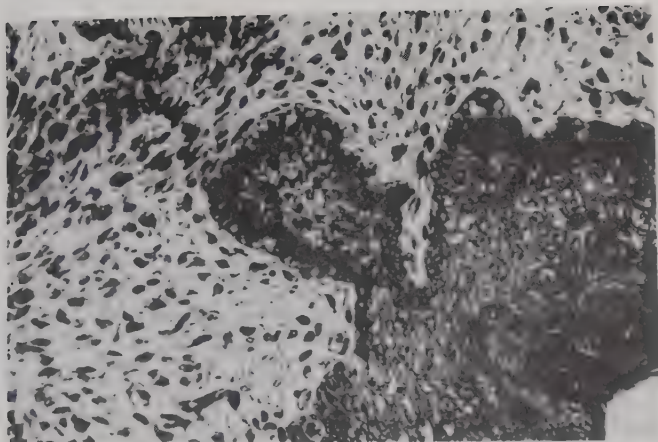


Abb. 12 und 13

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 13 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Schneidezahnkeim mit aufgelockertem
Zahnsäckchen. Keine deutliche
Gliederung in äußeres und inneres
Schmelzepithel sichtbar wegen
schlecht auszumachender Schmelzpulpa.
Vergrößerung 1 : 225

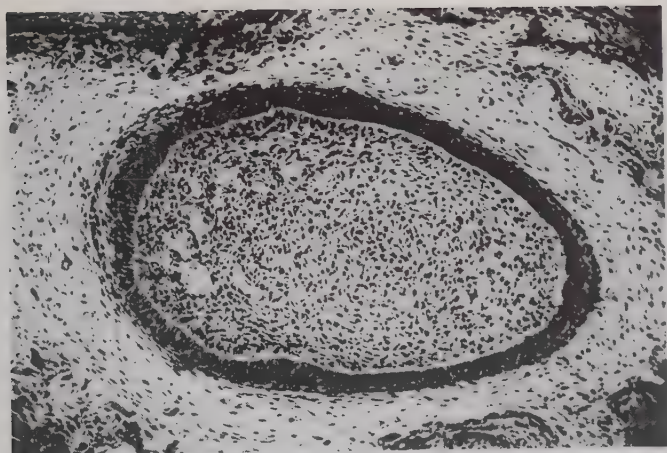


Abb. 14

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 13 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Incisivusanlage des Unterkiefers.
Übergangsstadium der Keulen- in
die Kappenform; Aufhellungen im
Oberflächenepithel.
Vergrößerung 1 : 140

Abb. 15

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 13 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Schneidezahnkeim; inneres und
äußeres Schmelzepithel sind
nicht durch die Schmelzpulpa getrennt.
Vergrößerung 1 : 140

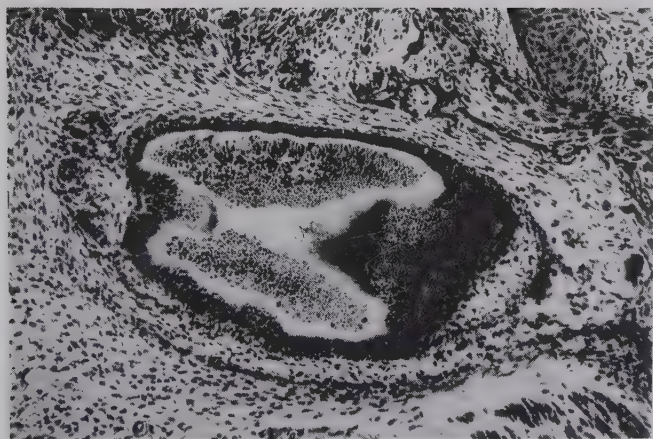
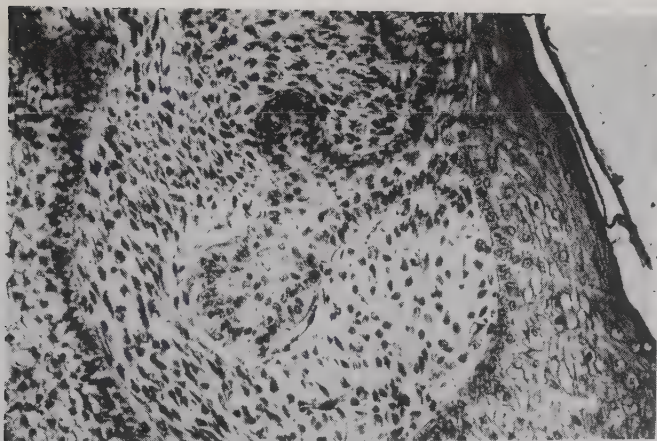


Abb. 16 und 17

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 14 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Beginn der Kappenform einer
Incisivusanlage des Oberkiefers;
vakuolige Veränderungen im Bereich
der primitiven Zahnanlage.
Vergrößerung 1 : 350 (Abb. 16)
1 : 560 (Abb. 17)



Abb. 18

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 14 gespritzt.
(HE-Färbung)
Frontalschnitt durch den Kopf eines
Rattenembryos. Die Zunge, die Nasen-
öffnungen mit Septum, die Oberkiefer-
anlage mit zwei glockenförmigen
Schneidezahnkeimen noch mit dem Mundhöhlen-
epithel in Verbindung stehend.
Vergrößerung 1 : 400



Abb. 19

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 15 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Glockenform einer Incisivusanlage des
Oberkiefers mit Resten der Zahnleiste.
Sowohl das innere als auch das äußere
Schmelzepithel zeigen keine klaren
Zellgrenzen, die Einschichtigkeit
des äußeren Schmelzepithels ist
nicht sichtbar.
Vergrößerung 1 : 180

Abb. 20

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 15 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Glockenform einer Incisivusanlage
des Unterkiefers weiter zentral
geschnitten. Zwischen äußerem und
innerem Schmelzepithel kann nicht
mehr unterschieden werden; starke
Vakuolisierung der übrigen Epithelbereiche.
Vergrößerung 1 : 140

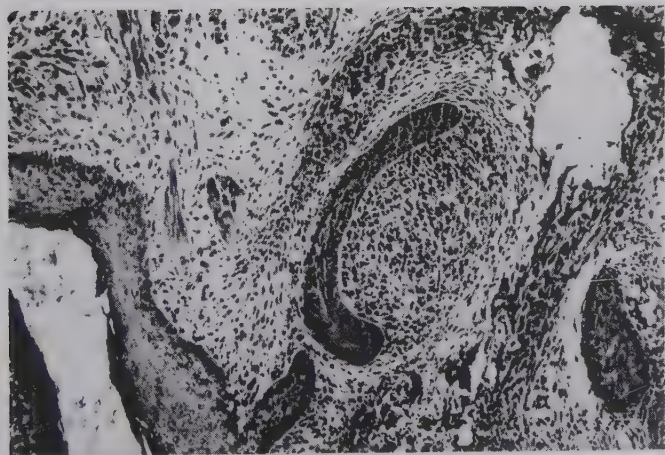
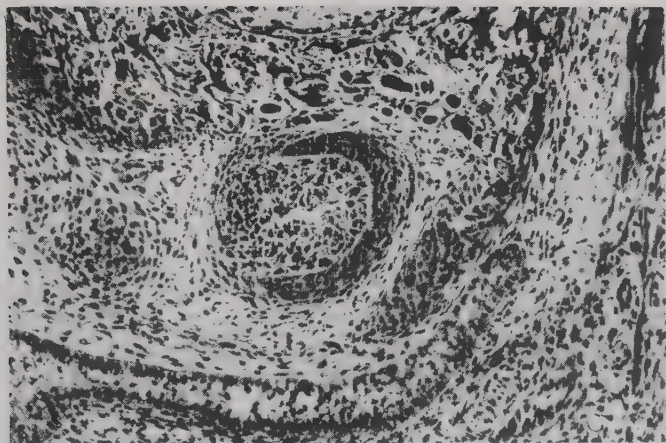


Abb. 21

Rattenembryo Tag 21 mit
10 mg/kg 6-AN am Tag 15 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Glockenförmige Incisivusanlage
des Oberkiefers noch mit dem
Mundhöhlenepithel in Verbindung
stehend; vakuolige Veränderungen
im Bereich des Mundhöhlenepithels.
Vergrößerung 1 : 60

Abb. 22

Rattenembryo Tag 21 mit
5 mg/kg 6-AN am Tag 16 gespritzt.
(Frontalschnitt, HE-Färbung)
Palisadenförmige Stellung der
Adamantoblasten und Odontoblasten
einer Incisivusanlage mit beginnender
Prädentinbildung.
Vergrößerung 1 : 60

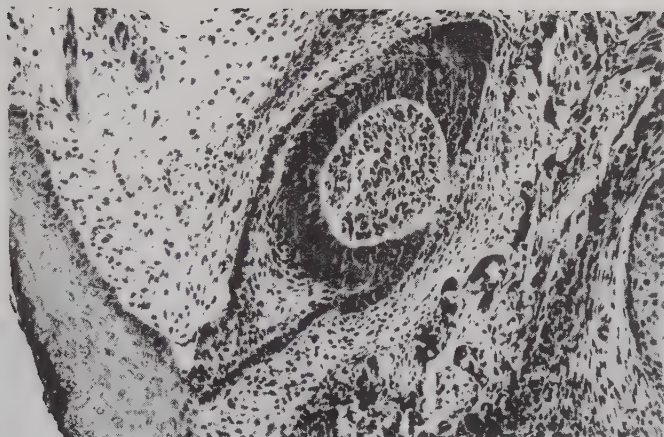


Abb. I

Rattenembryo Tag 13, 24 Stunden
nach Applikation von 6-AN.
Oberflächliche Zelle des Mundhöhlen-
epithels mit beginnender Erweiterung
der perinukleären Cisterne (●) und
einem großen intracytoplasmatischen
Hohlraum (x). M = Mitochondrien,
N = Nucleus, O = freie Ribosomen
Vergrößerung 1 : 52 500



Abb. II

Rattenembryo Tag 14, 48 Stunden
nach Applikation von 6-AN.
Mundhöhlenepithel, riesige Erweiterung
der perinukleären Cisterne (x)
mit Verdrängung des Kernes (N)
in einen Zellpol, einige intra-
cytoplasmatische Hohlräume (* ,
Erweiterung des endoplasmatischen
Retikulums ?). Mitochondrien = →
Vergrößerung 1 : 14 000

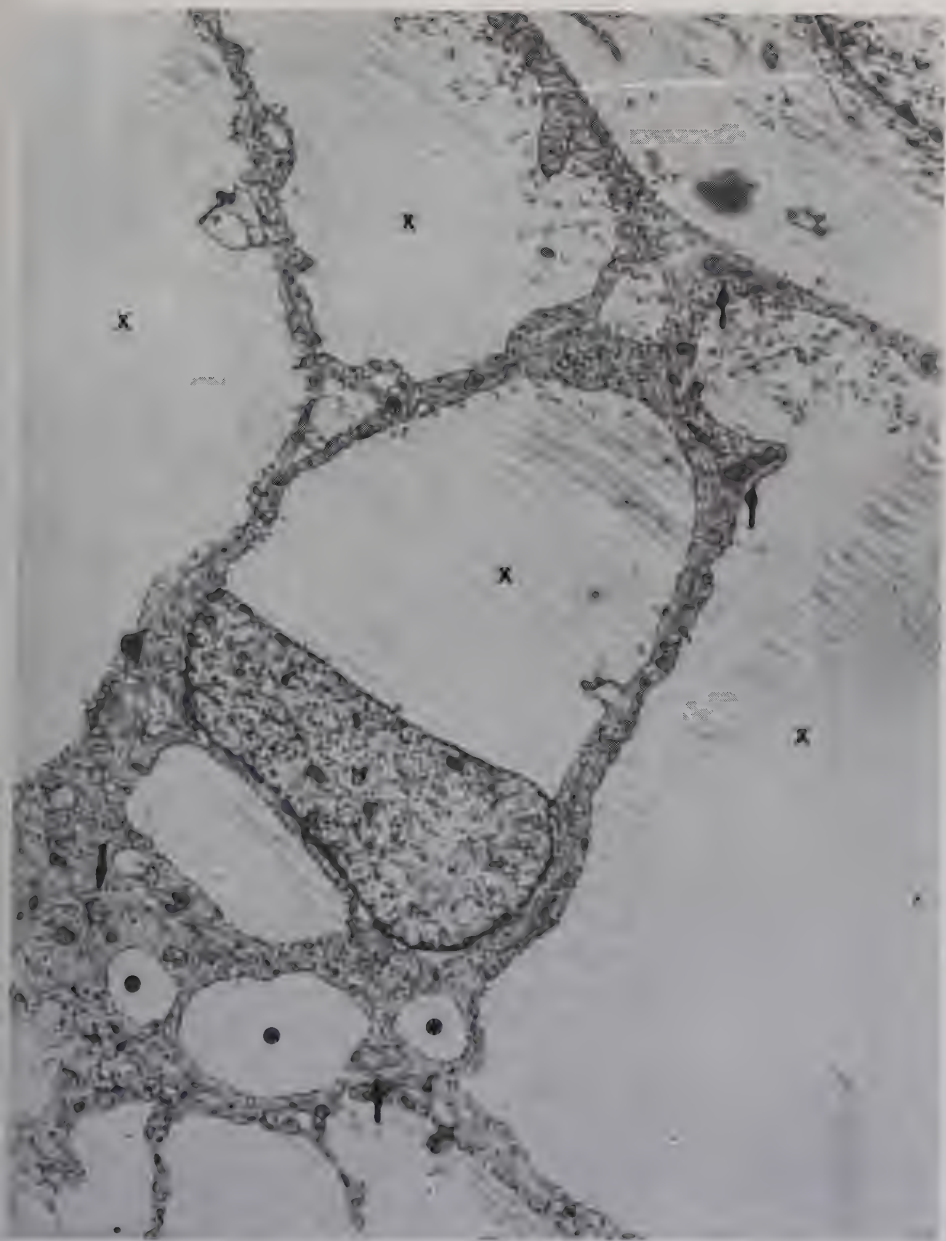


Abb. III

Rattenembryo Tag 14, 48 Stunden
nach Applikation von 6-AN.

Mundhöhlenepithel mit riesigen Erweiterungen
der perinukleären Cisterne (x), ohne daß
die Beziehungen zur Kernmembran immer
deutlich sind. Bei (→) noch sichtbare
Kernporen; am linken unteren Bildrand
ein normaler Fibroblast (F).

Vergrößerung 1 : 7 000

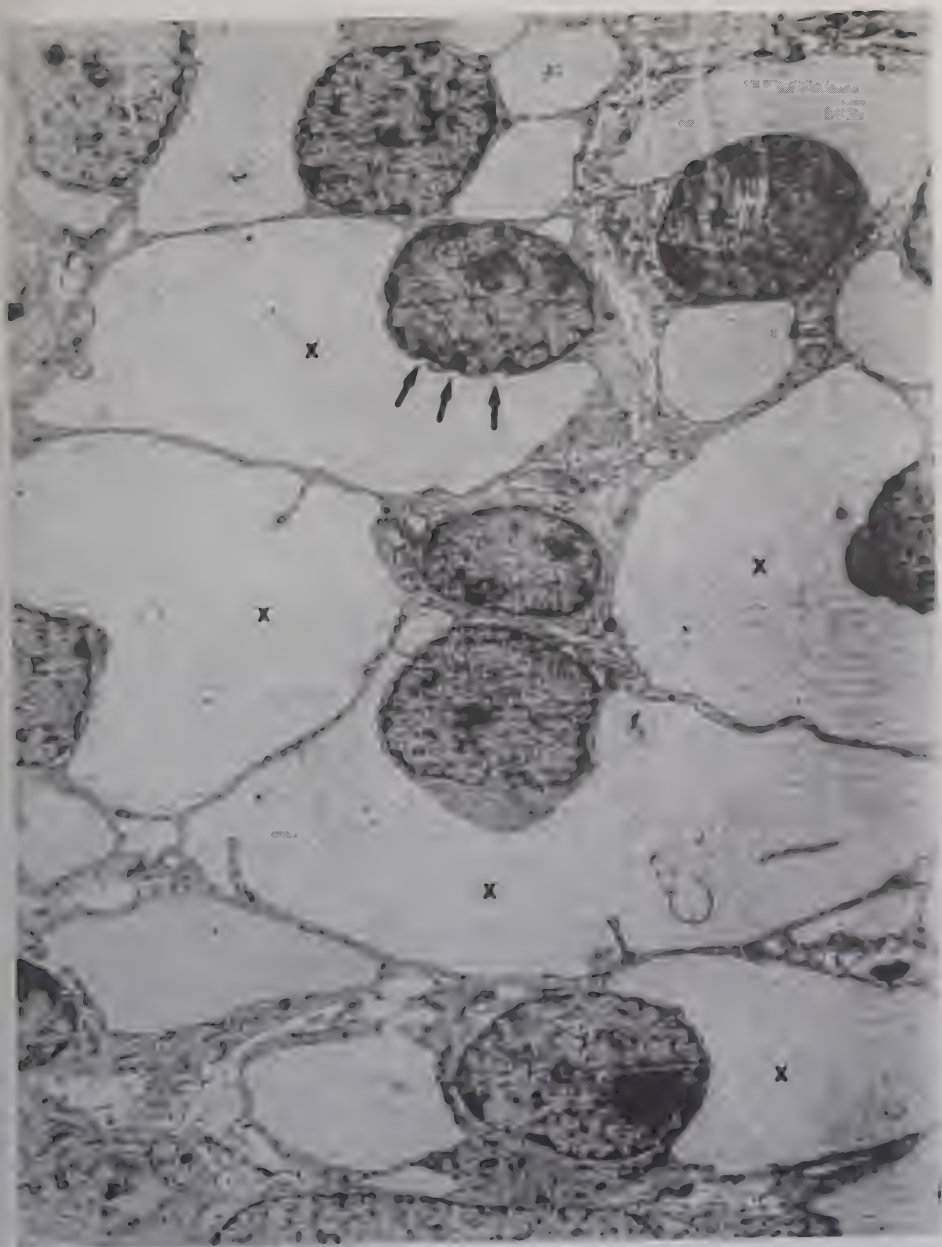


Abb. IV

Rattenembryo Tag 15, 48 Stunden
nach Applikation von 6-AN.
Zahnanlage mit typischen Hohlräumen
(x) und Verdrängung des Cytoplasmas
zu einem schmalen Raum in der Peri-
pherie. N = Nucleus
Vergrößerung 1 : 21 000

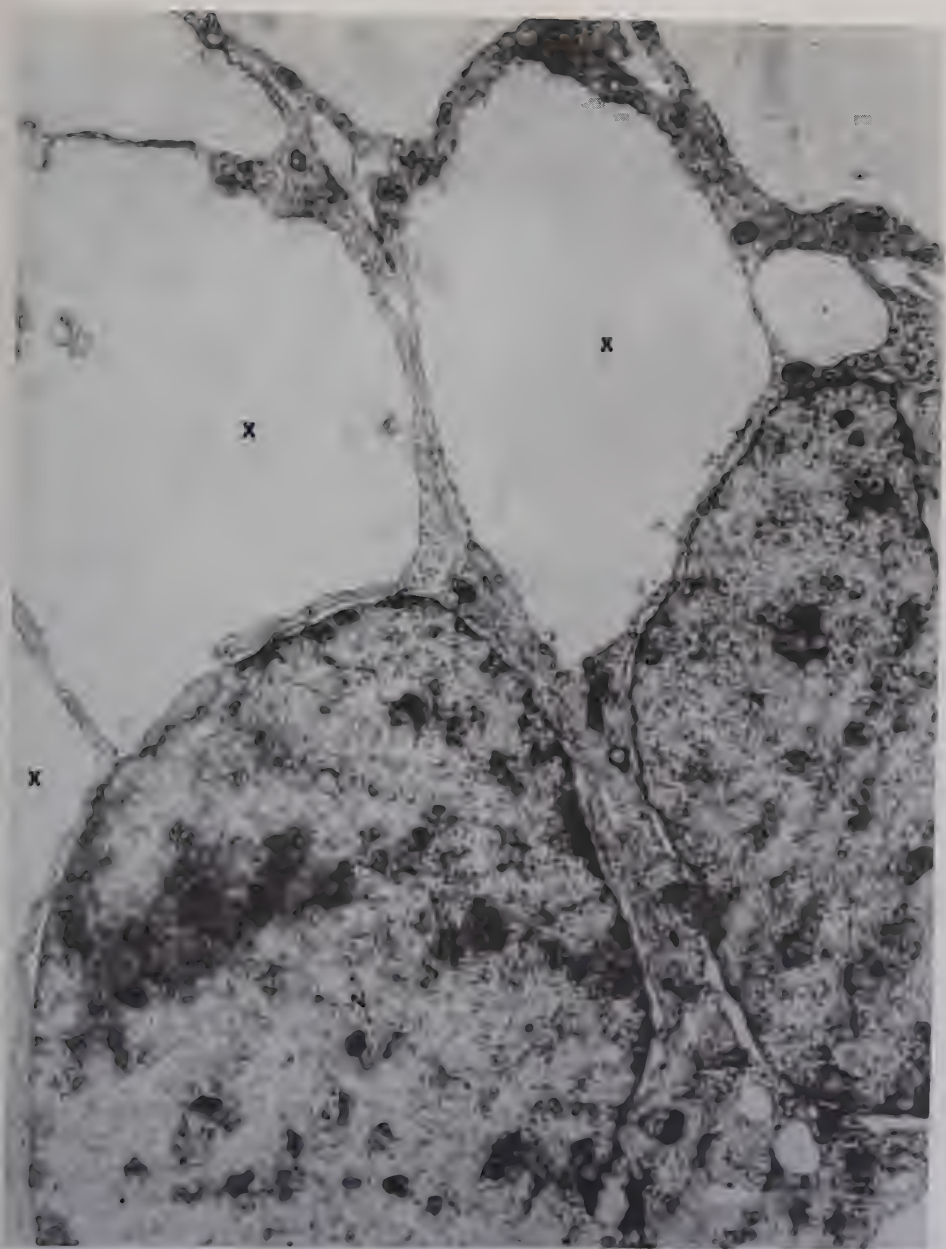


Abb. V

Rattenembryo Tag 16, 48 Stunden
nach Applikation von 6-AN.
Zahnanlage mit typischen
Vakuolen (x) und gering-
gradiger Erweiterung des
endoplasmatischen Retikulums (●).
Vergrößerung 1 : 7 000

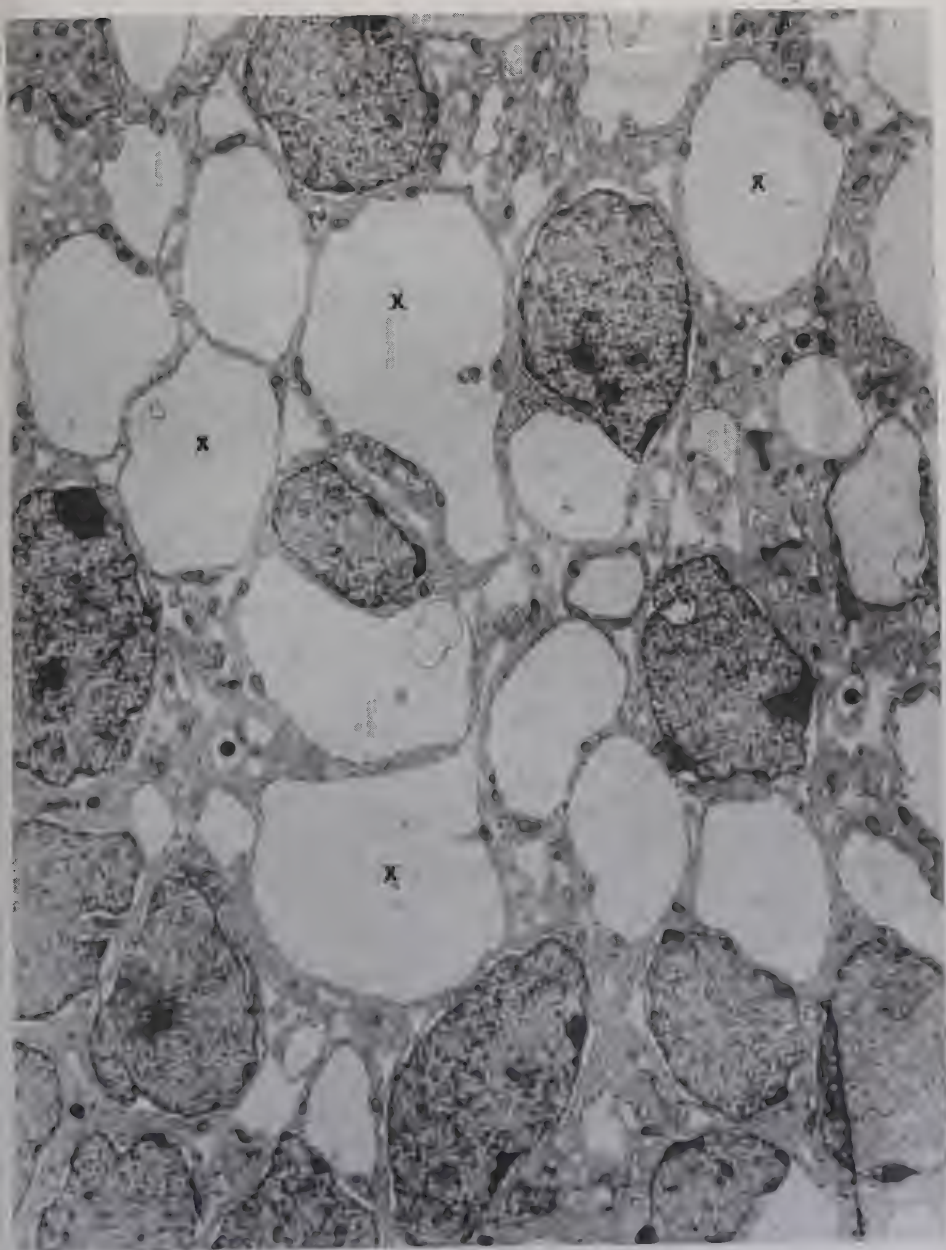


Abb. VI

Rattenembryo, Zahnanlage.
Typisches Bild einer Metaphase
aus dem Pulpamesenchym einer
unbehandelten Ratte vom Tage 16
mit Chromosomenanschnitten (→).
Vergrößerung 1 : 28 000

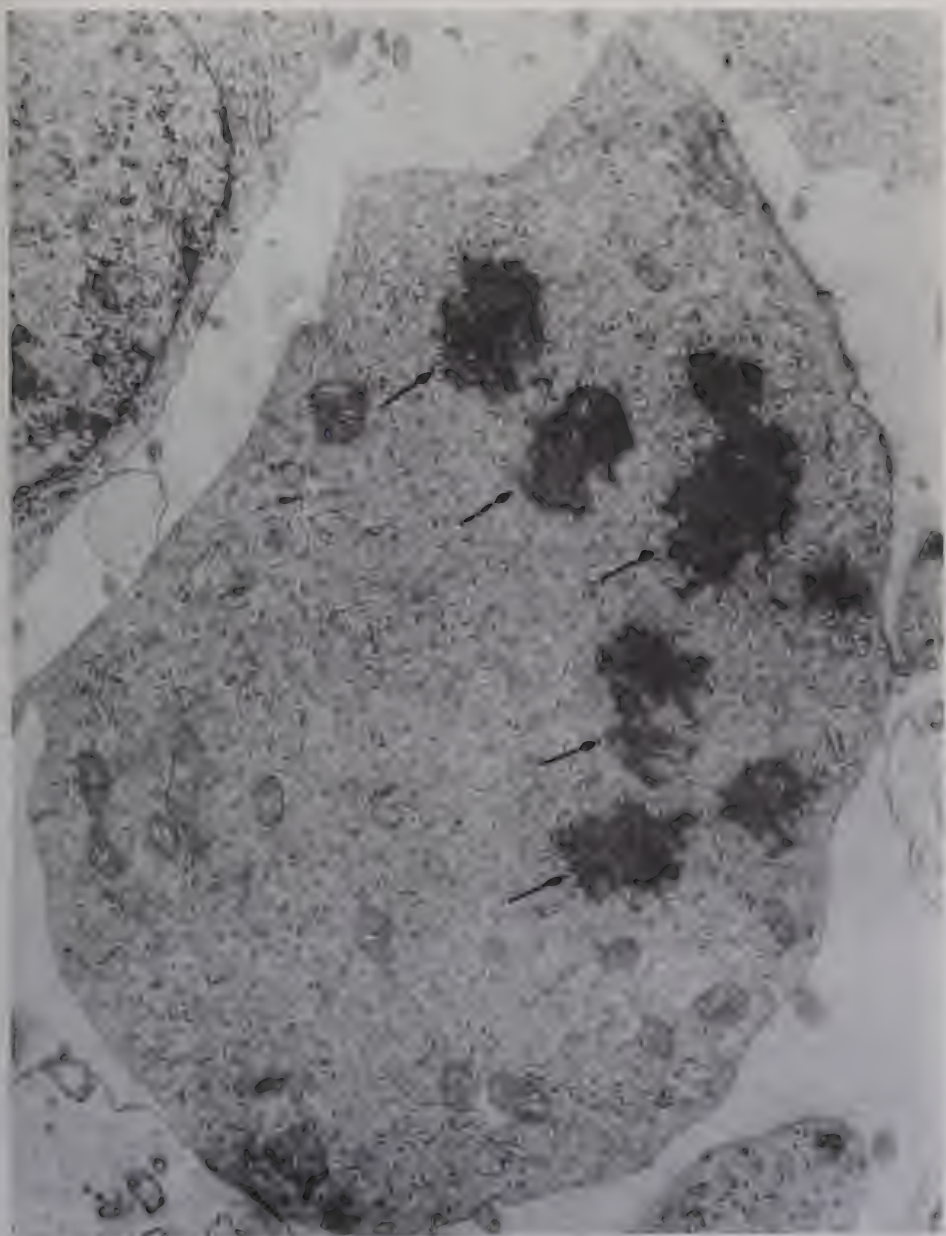


Abb. VII

Rattenembryo Tag 16, 24 Stunden
nach Applikation von 6-AN.
Zelle einer Zahnanlage in
Metaphase mit mehreren
Vakuolen (●).
Vergrößerung 1 : 21 000

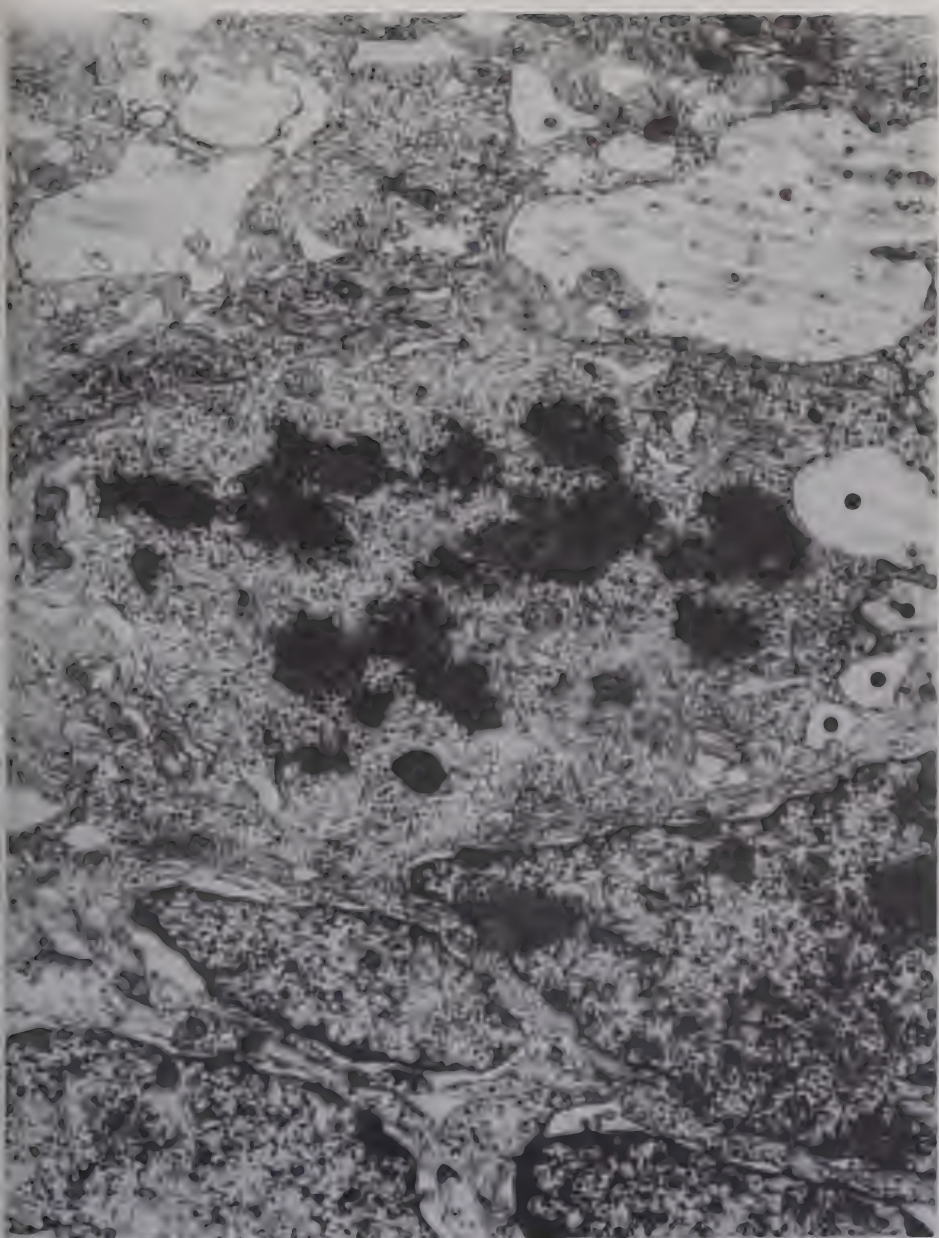


Abb. VIII

Rattenembryo Tag 16, 24 Stunden
nach Applikation von 6-AN.
Zahnanlage, Telophase mit noch
verdichtetem Chromatin und
mächtiger Erweiterung der gerade
gebildeten perinukleären Cisterne (x).
Vergrößerung 1 : 28 000

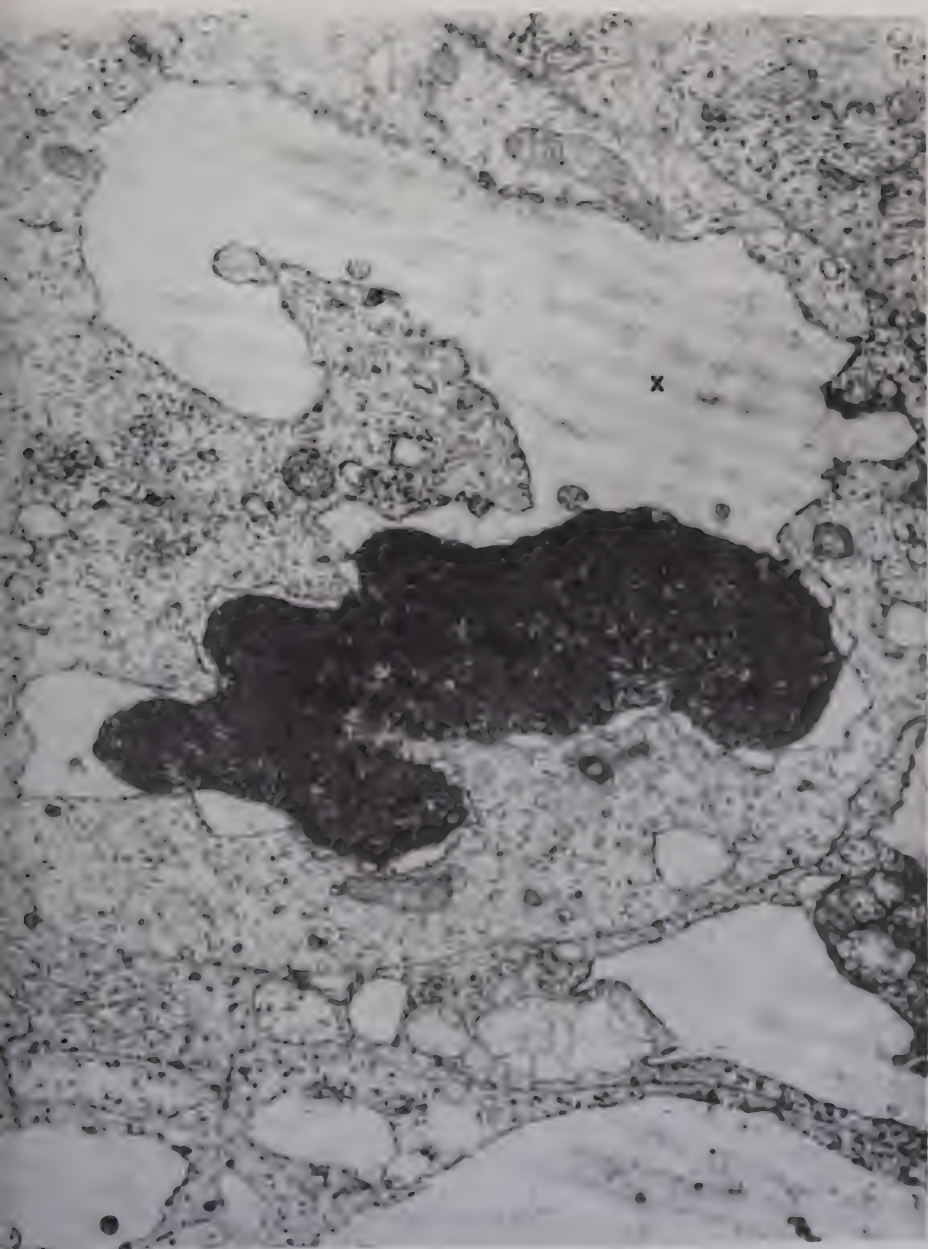


Abb. IX

Rattenembryo Tag 21, 5 Tage
nach Applikation von 6-AN.
Oberflächliche Zelle des Mundhöhlen-
epithels; Vorkommen einer typischen
Erweiterung der perinukleären
Cisterne (x) und einzelner
intracytoplasmatischer Hohl-
räume (*). G = Golgi-Apparat,
N = Nucleus
Vergrößerung 1 : 21 000

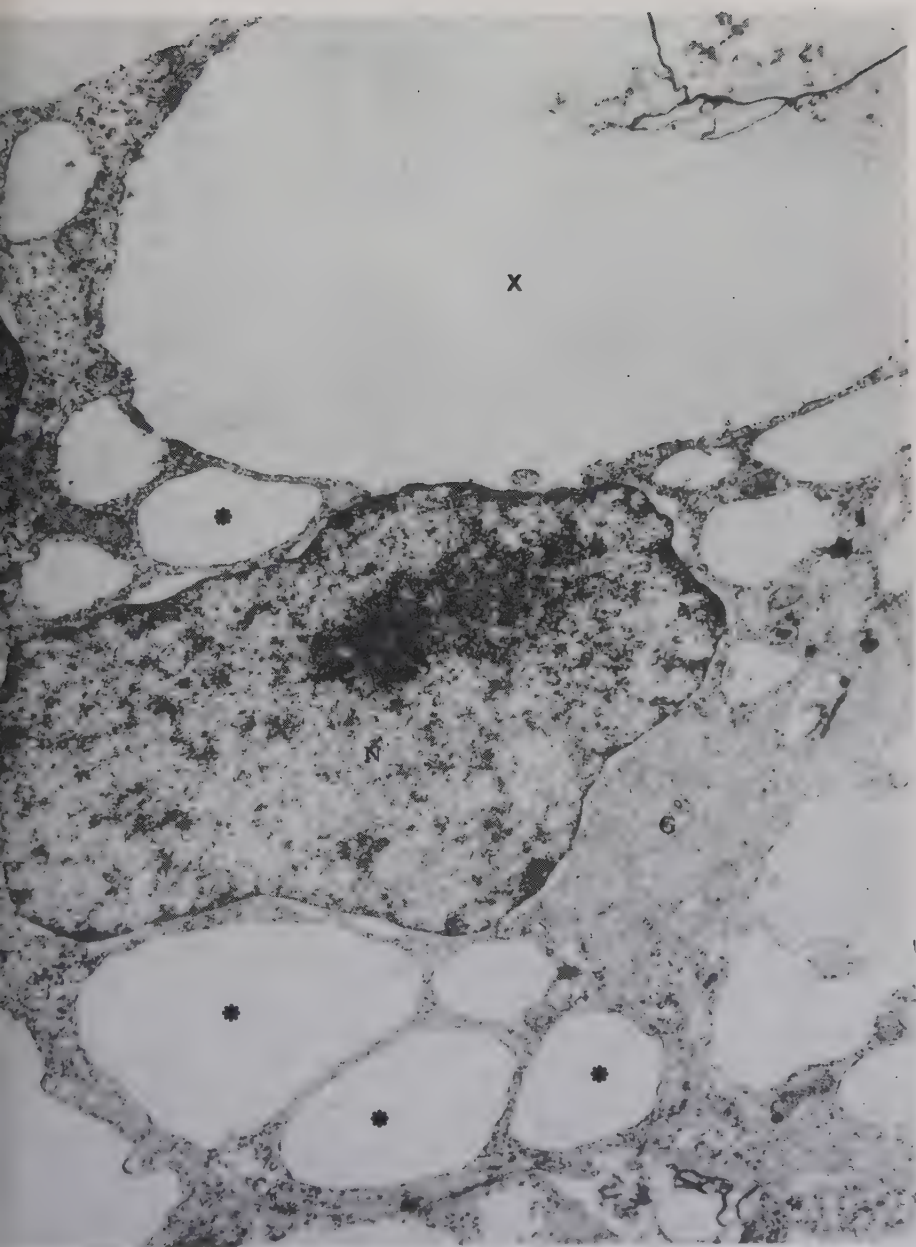


Abb. X

Rattenembryo Tag 16, 48 Stunden
nach Applikation von 6-AN.
Epithel-Mesenchymgrenze im Bereich
einer Zahnanlage mit typischer
Vakuolenbildung im Epithel (x)
und unveränderten Odontoblasten (O),
die eine beginnende Palisadenstellung
zeigen. BM = Basalmembran
Vergrößerung 1 : 21 000

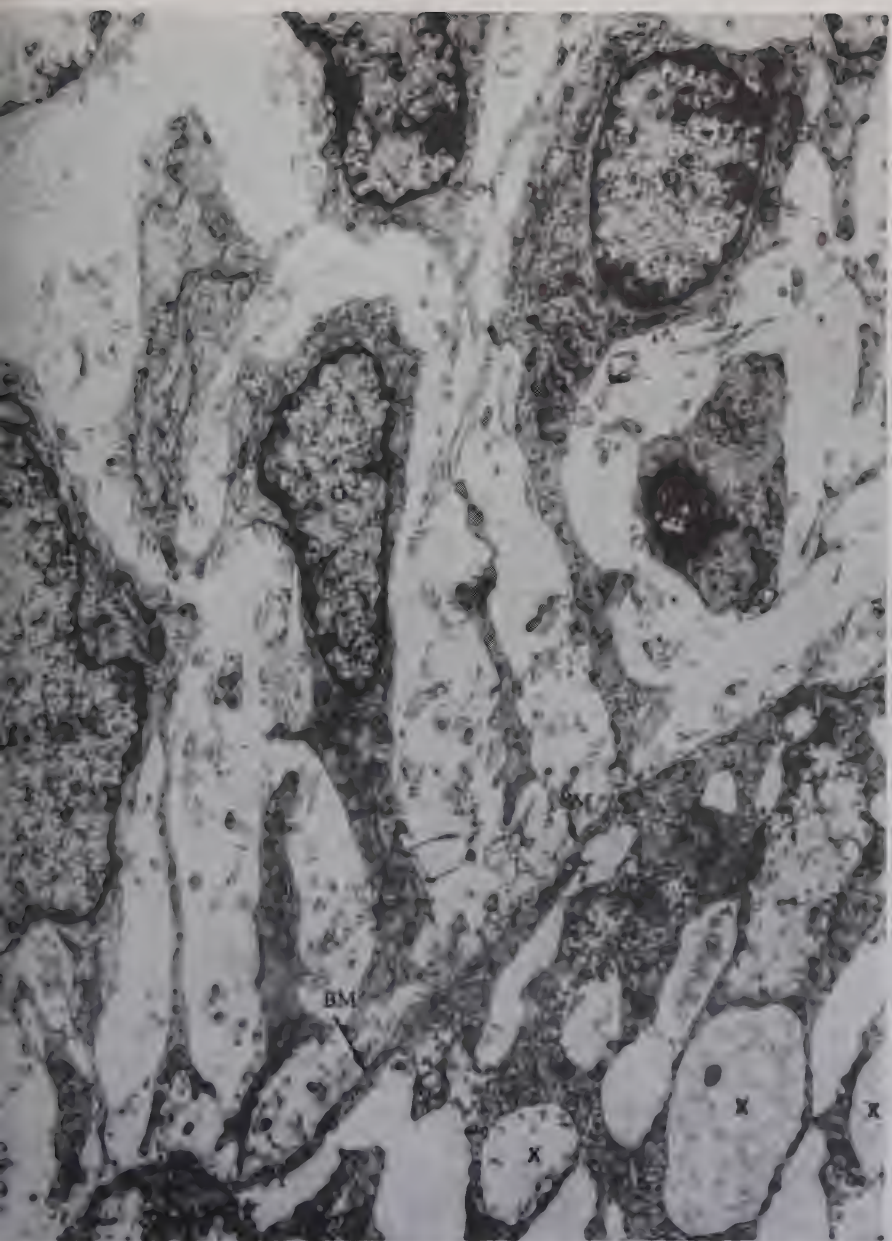


Abb. XI

Rattenembryo Tag 14, 48 Stunden
nach Applikation von 6-AN.
Epithel-Mesenchymgrenze (→) im
Bereich einer Zahnanlage mit
typischen Vakuolen (x).
Vakuolenbildungen (*) auch in
Mesenchymzellen.
Vergrößerung 1 : 7 000

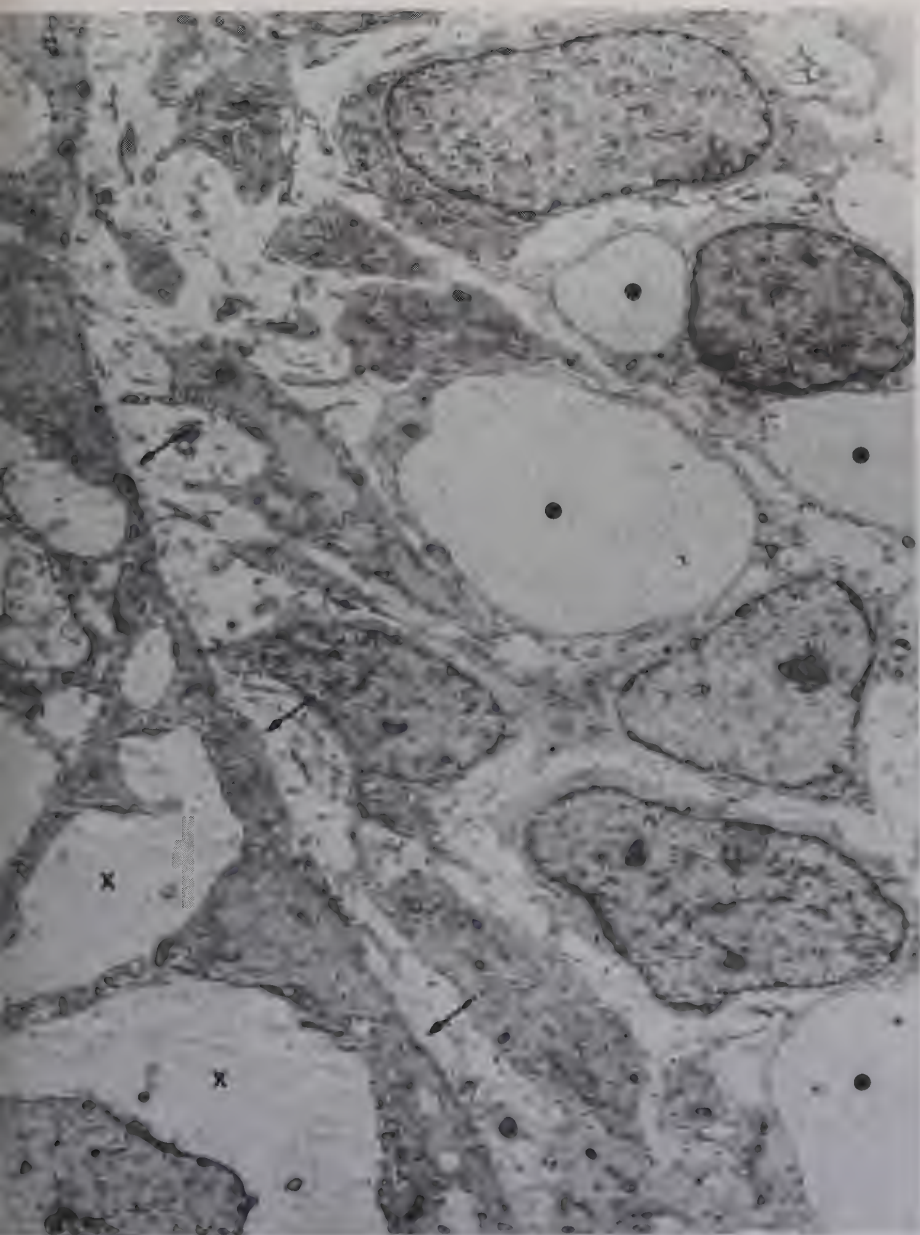
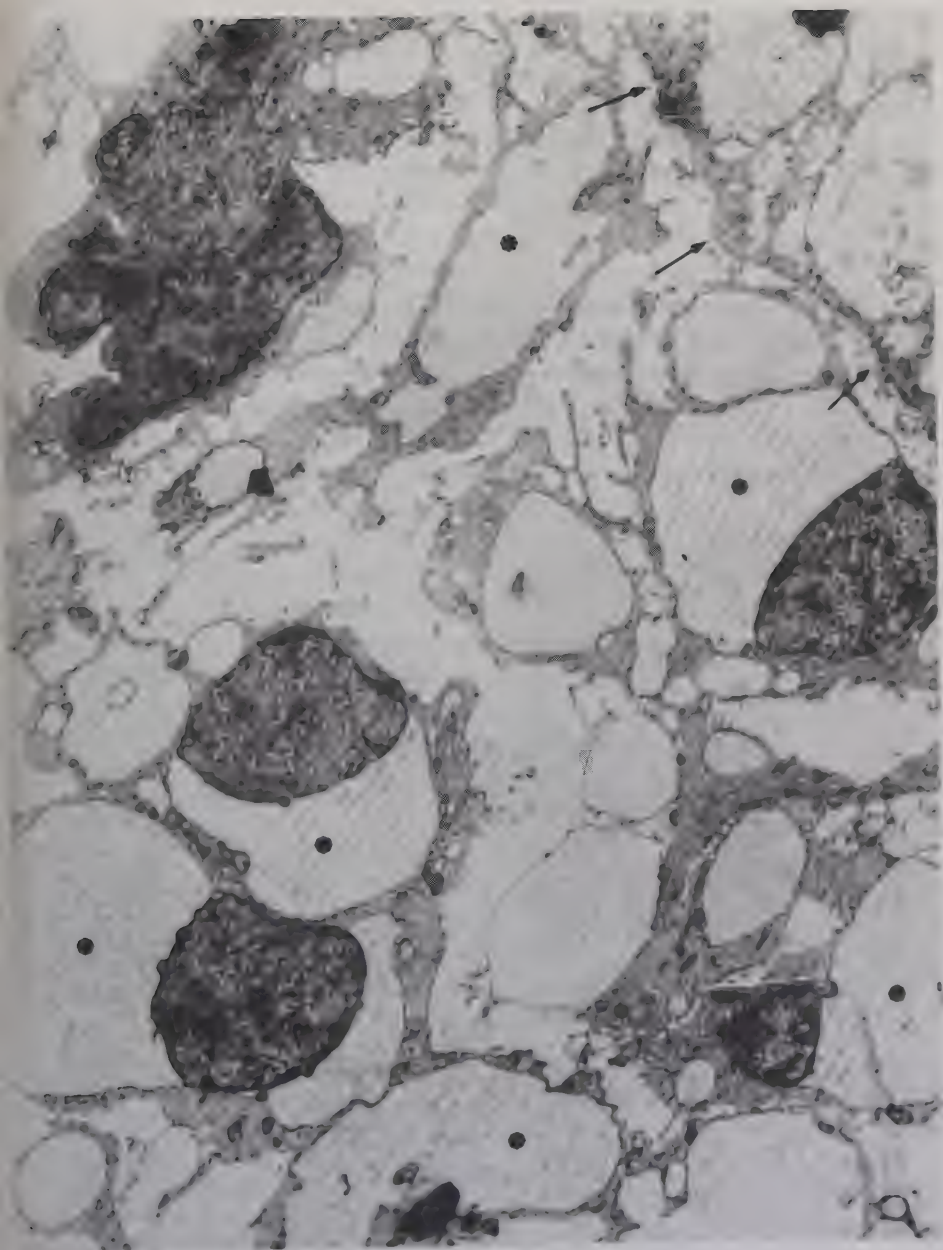


Abb. XII

Rattenembryo Tag 16, 48 Stunden
nach Applikation von 6-AN.
Vakuolenbildung in den Mesenchym-
zellen in der Nähe der Epithel-
mesenchymgrenze (→) einer Zahn-
anlage.
Vergrößerung 1 : 7 000



Herrn Prof. Dr. med. Hans-Joachim Merker
danke ich herzlich für die Überlassung
des Themas und für die Unterstützung bei
dieser Arbeit.

Lebenslauf

Am 29. Juni 1950 wurde ich als Tochter des Maurers Wladislau Wedrzyk und seiner Ehefrau Elisabeth Wedrzyk geb. Berger in Berlin Neukölln geboren.

Im Jahre 1957 wurde ich in Berlin Neukölln eingeschult.

1961 besuchte ich den neusprachlichen Zweig der Evangelischen Schule Berlin Frohnau, welche ich 1970 mit bestandener Reifeprüfung verließ.

Zum Wintersemester 1970/71 wurde ich an der Freien Universität Berlin im Studienfach Zahnmedizin immatrikuliert.

Die naturwissenschaftliche Vorprüfung legte ich 1971 und die zahnärztliche Vorprüfung 1973 ab.

Am 21. August 1972 heiratete ich den Zahnarzt Dr. Ralf Förster.

Im Januar 1976 schloß ich das Zahnmedizinstudium mit dem Staatsexamen ab.

